



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΧΗΜΙΚΟ
ΕΛΕΓΧΟ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΕΡΜΑΤΟΣ

ΠΑΝΩΡΑΙΑ ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΓΡΕΒΕΝΙΤΟΥ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ
Τ.Ε.Ι. ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ, 2021



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΧΗΜΙΚΟ
ΕΛΕΓΧΟ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΕΡΜΑΤΟΣ

ΠΑΝΩΡΑΙΑ ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΓΡΕΒΕΝΙΤΟΥ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ
Τ.Ε.Ι. ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ, 2021

Η Τριμελής Επιτροπή:

Επιβλέπων καθηγητής

Ανδρέας Τσακάλωφ
Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Χημείας
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Μέλη Τριμελούς Επιτροπής

Χρήστος Χατζηχριστοδούλου
Καθηγητής Υγιεινής και Επιδημιολογίας
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Γεώργιος Ραχιώτης
Αναπληρωτής Καθηγητής Επιδημιολογίας και
Επαγγελματικής Υγιεινής
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

*...στους γονείς μου
Δημήτρη και Ντανούτα-Σοφία*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ανάπτυξη και Επικύρωση Μεθόδων για το Χημικό Έλεγχο του Θαλάσσιου Έρματος

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη και η επικύρωση μεθόδων για τον χημικό έλεγχο του θαλάσσιου έρματος. Οι μέθοδοι περιλαμβάνουν τον έλεγχο για την παρουσία των τοξικών παραπροϊόντων που προκύπτουν μετά από την απολύμανση του θαλάσσιου έρματος με το χλώριο και τις οξειδωτικές του ενώσεις.

Τα πλοία χρησιμοποιούν το θαλάσσιο έρμα ώστε να εξασφαλίσουν ευστάθεια, πλευστότητα, καθώς και για τον έλεγχο λειτουργικών διαδικασιών, κυρίως όταν ταξιδεύουν με περιορισμένο ή χωρίς φορτίο. Ωστόσο, το έρμα έχει αναγνωριστεί ως μέσο μεταφοράς υδρόβιων ειδών μεταξύ των οικοσυστημάτων. Από ένα λιμάνι λαμβάνεται έρμα στο πλοίο (ερματισμός), το οποίο στη συνέχεια απορρίπτεται σε ένα άλλο λιμάνι (αφερματισμός), επιτρέποντας σε διαφορετικά υδρόβια είδη να μεταφερθούν από το αρχικό περιβάλλον και να εισαχθούν στο νέο περιβάλλον, προκαλώντας επιπτώσεις στο οικοσύστημα του και κατ' επέκταση στην οικονομία και στη Δημόσια Υγεία.

Για τη μείωση/πρόληψη της εξάπλωσης υδρόβιων ειδών μέσω του θαλάσσιου έρματος, ο Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός (ΙΜΟ) υιοθέτησε το 2004, την Διεθνή Σύμβαση για τη Διαχείριση του Θαλάσσιου Έρματος και των Ιζημάτων του. Σύμφωνα με τη Σύμβαση, το θαλάσσιο έρμα θα πρέπει να υφίσταται επεξεργασία πριν την απόρριψή του, ώστε να καταστρέφονται οι οργανισμοί και οι μικροοργανισμοί που διαβιώνουν σε αυτό. Η απολύμανση του θαλάσσιου έρματος επιτυγχάνεται με τη χρήση διαφορετικών μεθόδων όπως: ηλεκτροχλωρίωση, υπεριώδης ακτινοβολία ή χρήση ισχυρών οξειδωτικών – όπως είναι το χλώριο και οι οξειδωτικές του ενώσεις. Ωστόσο, η διαδικασία της απολύμανσης μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή παραπροϊόντων σε τοξικές για τον άνθρωπο και το περιβάλλον συγκεντρώσεις.

Στην παρούσα εργασία αναπτύχθηκαν και επικυρώθηκαν μέθοδοι ελέγχου που καλύπτουν όλες οι τοξικές ενώσεις που προκύπτουν κατά την απολύμανση και ρυθμίζονται από υφιστάμενες οδηγίες. Αναπτύχθηκε φωτομετρική μέθοδος προσδιορισμού διοξειδίου του χλωρίου και ογκομετρική μέθοδος προσδιορισμού χλωρικών και χλωριωδών ιόντων. Αναπτύχθηκαν μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού αλογονομεθανίων και αλογονοξικών οξέων με απομόνωση των αναλυτών με εκχύλιση υγρού-υγρού και ανάλυση με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD).

Η επικύρωση των μεθόδων που αναπτύχθηκαν έγινε με βάση τις οδηγίες του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων (EMA) και του Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (FDA). Διαπιστώθηκε ότι οι μέθοδοι παρουσιάζουν αποδεκτή ακρίβεια, καλή επαναληψιμότητα και καλή αναπαραγωγιμότητα μεταξύ των μετρήσεων. Οι μέθοδοι που αναπτύχθηκαν καλύπτουν τις βασικές ενώσεις που προκύπτουν από την απολύμανση του θαλάσσιου έρματος με οξειδωτικές ενώσεις του χλωρίου και πέραν τούτου, από την απολύμανση νερού ανθρώπινης κατανάλωσης και νερού αστικών λυμάτων.

Λέξεις – κλειδιά: Θαλάσσιο έρμα, παραπροϊόντα απολύμανσης, επικύρωση μεθόδων, διοξείδιο του χλωρίου, χλωριώδη ιόντα, χλωρικά ιόντα, αλογονομεθάνια, αλογονοξικά οξέα, εκχύλιση υγρού – υγρού, αέρια χρωματογραφία

ABSTRACT

Development and Validation of Methods for Ballast Water Chemical Control

The purpose of this study is the development and validation of methodologies for the chemical control of ballast water. The methods include the control of the presence of toxic by-products that are formed after disinfection of ballast water with chlorine and its oxidizing compounds.

Ballast water is taken on board a ship in order to maintain stability and buoyancy and to control optimal operations of the propeller and the rudder, especially when the ship is sailing with limited or no cargo. However, ballast water is recognized as a mean of transportation and an import route for different aquatic species between marine ecosystems. Ballast water is taken in at one port (ballasting) and discharged at another (deballasting), allowing different marine species from the primary environment to be transported and introduced to new environments, causing damages to the ecosystem, the economy and human health.

In order to reduce or prevent these effects, in 2004 the International Maritime Organization (IMO) adopted the International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments (BWMC). According to the BWMC, ballast water carried by ships has to be treated in order to destroy organisms and microorganisms that live in it, before deballasting. Ballast water management systems achieve disinfection using methods such as electrochlorination, UV radiation or using strong oxidants such as chlorine. Disinfection may lead to the production of disinfection by products (DBPs), in concentration that are toxic to human health and the environment.

A spectrophotometric method for the determination of chlorine dioxide and a titrimetric method for the determination of chlorate and chlorite ion were developed. Gas-chromatography with an electron capture detector (GC-ECD) methods were developed for the quantification of halomethanes and haloacetic acids. The methods include isolation of analytes via liquid – liquid extraction.

The validation of developed methods was conducted according to guidelines of the European Medicines Agency (EMA) and the Food and Drug Administration of the USA. (FDA). The methods were found to have acceptable accuracy, good repeatability and good reproducibility between measurements. The methods developed cover the basic compounds resulting from the disinfection of marine ballast water with chlorine and its oxidizing compounds and moreover, from drinking water and wastewater disinfection

Key words: ballast water, disinfection by-products, method validation, chlorine dioxide, chlorite ion, chlorate ion, halomethanes, haloacetic acids, liquid – liquid extraction, gas chromatography

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΟΦΡΑΦΙΩΝ

ΣΥΝΤΜΗΣΗ	ΑΓΓΛΙΚΗ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ	ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ
BWE	Ballast Water Exchange	Ανταλλαγή Θαλάσσιου Έρματος
BWMC	Ballast Water Management Convention	Σύμβαση Διαχείρισης Θαλάσσιου Έρματος
BWMS	Ballast Water Management Systems	Συστήματα Διαχείρισης Θαλάσσιου Έρματος
DBPs	Disinfection By-Products	Παραπροϊόντα Απολύμανσης
EEZ	Exclusive Economic Zone	Αποκλειστική Οικονομική Ζώνη (ΑΟΖ)
EMA	European Medicines Agency	Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων
EMSA	European Maritime Safety Agency	Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την Ασφάλεια στη Θάλασσα
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων
GC-ECD	Gas Chromatography-Electron Capture Detector	Αέρια Χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων
GESAMP	Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environment Protection	Ομάδα Εμπειρογνομόνων Επιστημονικής Αξιολόγησης για τη Θαλάσσια Ρύπανση
HAAs	Haloacetic acids	Αλογονοξικά οξέα
IARC	International Agency for Research on Cancer	Διεθνής Υπηρεσία Έρευνας για τον Καρκίνο
IAS	Invasive Aquatic Species	Εισαγόμενα Υδρόβια Είδη
ICES	International Council for the Exploration of the Sea	Διεθνές Συμβούλιο για την Εξερεύνηση της Θάλασσας
ICH	International Council for Harmonisation	Διεθνής Οργανισμός Κανονικοποίησης
IMO	International Maritime Organization	Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός
IOC	Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO	Διακυβερνητική Ωκεανογραφική Επιτροπή της UNESCO
MEPC	Marine Environment Protection Committee	Επιτροπή Προστασίας του Θαλάσσιου Περιβάλλοντος
PSSA	Particularly Sensitive Sea Areas	Ιδιαίτερα Ευαίσθητες Θαλάσσιες Περιοχές
TDI	Tolerable Daily Intake	Ανεκτή Ημερήσια Πρόσληψη
THMs	Trihalomethanes	Τριαλογονομεθάνια
UNCTAD	United Nations Conference on Trade and Development	Διάσκεψη των Ηνωμένων Εθνών για το εμπόριο και την ανάπτυξη
US-EPA	United States Environmental Protection Agency	Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος των Η.Π.Α.

ΣΥΝΤΜΗΣΗ**ΑΓΓΛΙΚΗ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ****ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ**

USCG

United States Coast Guard

Ακτοφυλακή των Η.Π.Α.

WGBOSV

Working Group on Ballast and Other
Ship VectorsΟμάδα εργασίας για το έρμα και άλλους
φορείς πλοίων

WHO

World Health Organization

Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	I
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	II
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	III
Α΄ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	1
Θαλάσσιο Έρμα.....	1
1.1. Εισαγωγή στο θαλάσσιο έρμα.....	1
1.1.1. Κύκλος ερματισμού-αφερματισμού.....	2
1.2. Βιο-εισβολή και θαλάσσιο έρμα.....	3
1.2.1. Επιπτώσεις της βιο-εισβολής.....	4
1.2.2. Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός.....	4
1.2.3. Παραδείγματα εισαγόμενων ειδών.....	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	12
Διαχείριση και έλεγχος του Θαλάσσιου Έρματος και των ιζημάτων του.....	12
2.1. Διεθνής Σύμβαση για τον έλεγχο και τη Διαχείριση θαλάσσιου έρματος και των ιζημάτων του.....	12
2.2. Διαχείριση θαλάσσιου έρματος στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής.....	18
2.3. Οδηγίες και ρυθμίσεις για το θαλάσσιο έρμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση.....	20
2.3.1. Η θέση της Ελλάδας στην διαχείριση του θαλάσσιου έρματος.....	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	22
Μέθοδοι Διαχείρισης Θαλάσσιου Έρματος.....	22
3.1. Μέθοδοι ανταλλαγής θαλάσσιου έρματος.....	22
3.2. Μέθοδοι επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος.....	23
3.2.1. Πρωτοβάθμια επεξεργασία – Μηχανική επεξεργασία.....	25
3.2.2. Δευτεροβάθμια επεξεργασία – Φυσική επεξεργασία.....	27
3.2.3. Δευτεροβάθμια επεξεργασία – Χημική επεξεργασία.....	31
3.2.3.1. Εξουδετέρωση ενεργών ουσιών.....	36
3.3. Παραπροϊόντα απολύμανσης.....	37
3.3.1. Παράγοντες σχηματισμού παραπροϊόντων απολύμανσης.....	37
3.3.2. Ομάδες Παραπροϊόντων Απολύμανσης στο θαλάσσιο έρμα.....	42
3.3.3. Επιπτώσεις ενεργών ουσιών και παραπροϊόντων απολύμανσης στην ανθρώπινη υγεία.....	46
3.3.4. Εργαστηριακός Έλεγχος των Παραπροϊόντων Απολύμανσης στο Θαλάσσιο Έρμα.....	56
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	57
Βασικές Μέθοδοι Ενόργανης Χημικής Ανάλυσης στον Έλεγχο του Θαλάσσιου Έρματος.....	57
4.1. Φασματοφωτομετρία.....	57
4.2. Προκατεργασία δειγμάτων πριν την χρωματογραφική ανάλυση.....	59
4.3. Ενόργανη Ανάλυση.....	61
4.3.1. Αέρια Χρωματογραφία.....	61
4.3.2. Αέρια χρωματογραφία- φασματομετρία μαζών (GC-MS).....	62
4.3.3. Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD).....	63
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	64
Επικύρωση Αναλυτικών Μεθόδων.....	64

Β' ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	72
Φωτομετρικός Προσδιορισμός Διοξειδίου του Χλωρίου.....	72
1.1. Υλικά και Μέθοδοι.....	72
1.2. Πειραματική πορεία.....	73
1.2.1. Παρασκευή διαλυμάτων.....	73
1.2.2. Φωτομετρική ανάλυση.....	74
1.3. Γραμμικότητα, επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα μεθόδου.....	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	77
Ογκομετρικός Προσδιορισμός Χλωριωδών και Χλωρικών Ιόντων.....	77
2.1. Υλικά και Μέθοδοι.....	77
2.2. Πειραματική Πορεία.....	77
2.2.1. Παρασκευή διαλυμάτων.....	77
2.2.2. Ογκομετρικός προσδιορισμός του δείγματος.....	78
2.3. Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου.....	78
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	80
Χρωματογραφικός Προσδιορισμός Οργανοαλογονομένων Παραπροϊόντων Απολύμανσης με Αέρια Χρωματογραφία με Ανιχνευτή Σύλληψης Ηλεκτρονίων.....	80
3.1. Υλικά και μέθοδοι.....	80
3.2. Λογισμικό διαχείρισής του οργάνου Clarus 580 GC-ECD-NPD, παραλαβής και επεξεργασίας των χρωματογραφικών δεδομένων.....	82
3.3. Αξιολόγηση χρωματογράφηματος.....	83
3.4. Χρωματογραφικός Προσδιορισμός Τριαλογονομεθανίων.....	84
3.4.1. Πειραματική Πορεία.....	84
3.4.1.1. Παρασκευή διαλυμάτων.....	84
3.4.1.2. Χρωματογραφική Ανάλυση.....	85
3.4.1.3. Επιλογή παραμέτρων της εκχύλισης υγρού-υγρού.....	89
3.4.2. Παράγοντες επικύρωσης της μεθόδου.....	93
Ακρίβεια, Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου.....	93
3.4.4. Πρωτόκολλο ανάλυσης.....	95
3.5. Χρωματογραφικός Προσδιορισμός Αλογονοξικών Οξέων.....	96
3.5.1. Πειραματική πορεία.....	96
3.5.1.1. Παρασκευή διαλυμάτων.....	96
3.5.1.2. Χρωματογραφική ανάλυση.....	97
3.5.5. Παράγοντες επικύρωσης της μεθόδου.....	103
3.5.6. Πρωτόκολλο ανάλυσης.....	107
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	108
Εφαρμογή Μεθόδων που αναπτύχθηκαν σε Δείγματα Ύδατος.....	108
4.1. Δειγματοληψία.....	108
4.2. Ανάλυση δειγμάτων πόσιμου νερού.....	110
Συμπεράσματα ανάπτυξης και επικύρωσης μεθόδων για τον χημικό έλεγχο του θαλάσσιου έρματος.....	113
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	115
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	122

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο Τσακάλωφ Ανδρέα, Αναπληρωτή Καθηγητή Ιατρικής Χημείας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας εργασίας, για την επιστημονική του καθοδήγηση και το αμείωτο ενδιαφέρον του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της. Επίσης τον ευχαριστώ για την δυνατότητα που μου έδωσε να εκπαιδευτώ και να εργαστώ σε εξειδικευμένα αναλυτικά όργανα της ειδικότητάς του.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω προς τον κύριο Χατζηχριστοδούλου Χρήστο, Καθηγητή Υγιεινής και Επιδημιολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, επιστημονικό υπεύθυνο του Μεταπτυχιακού Πραγράμματος και μέλος της τριμελούς μου επιτροπής. Τον ευχαριστώ από την καρδιά μου για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάληψη της παρούσας εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για τις χρήσιμες συμβουλές του και για την ευκαιρία να εργαστώ στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ώστε να αποκτήσω πολύτιμη εμπειρία στον χώρο της Δημόσιας Υγείας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κύριο Ραχιώτη Γεώργιο, Αναπληρωτή Καθηγητή Επιδημιολογίας και Επαγγελματικής Υγιεινής του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και μέλος της τριμελούς επιτροπής, για την αμέριστη συμπαράσταση και κατανόηση του καθώς και για τον πολύτιμο χρόνο του που αφιέρωσε στην εξέταση της παρούσας εργασίας.

Δεν θα μπορούσα φυσικά να παραλείψω και να μην ευχαριστήσω την κυρία Χατζηνίκου Μαρίνα, Χημικός και Τεχνική Υπεύθυνη του Χημικού Εργαστηρίου του Περιφερειακού Εργαστηρίου Δημόσιας Υγείας Θεσσαλίας, τον σημαντικότερο άνθρωπο που είχα την χαρά να γνωρίσω και να συνεργαστώ υπό την επίβλεψή της. Εκφράζω θερμά την εκτίμησή μου για τις γνώσεις που μου μετέδωσε και την αμέριστη συμπαράσταση της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Γκαγκτζή Δημήτρη για την συνεχή υποστήριξή του, τον Καλομπάτσιο Δημήτρη για την πολύτιμη βοήθεια του και την συνεργασία μας κατά τη διάρκεια εκπόνησης του πειραματικού μέρους της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και όλο το υπόλοιπο προσωπικό του Εργαστηρίου για το ειλικρινές ενδιαφέρον τους και την συνεργασία μας.

Τέλος, ιδιαίτερες ευχαριστίες απευθύνω προς την κυρία Λεοντίτση Αφροδίτη, γραμματέα του τμήματος, για την βοήθεια της που μου πρόσφερε απρόσκοπτα.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Προσαρμοσμένος πίνακας με τα οξειδωτικά βιοκτόνα και τα παράγωγά τους που πρέπει να ελέγχονται μετά την απολύμανση του θαλάσσιου έρματος, σύμφωνα με την οδηγία της EPA ^[83]	42
Πίνακας 2 Παραμετρικές τιμές παραπροϊόντων απολύμανσης στο πόσιμο νερό σύμφωνα με τους οργανισμούς WHO ^[85] και USEPA ^[86]	45
Πίνακας 3. Τιμές αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης (TDI) παραπροϊόντων απολύμανσης σύμφωνα με τον WHO ^[85] και όρια έκθεσης από την GESAMP ^[22]	55
Πίνακας 4. Αποτελέσματα ελέγχου ακρίβειας της μεθόδου σε πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης 0.5, 1 & 2mg/L ClO ₂	75
Πίνακας 5. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 2 mg/L	76
Πίνακας 6. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 2 mg/L	76
Πίνακας 7. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 400 mg/L	79
Πίνακας 8. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 400 mg/L	79
Πίνακας 9. Μείγμα οργανοχλωριωμένων ενώσεων και τριαλογονομεθανίων	84
Πίνακας 10. Τριαλογονομεθάνια και οργανοχλωριωμένες ενώσεις που αναλύθηκαν (1)	88
Πίνακας 11. Τριαλογονομεθάνια και οργανοχλωριωμένες ενώσεις που αναλύθηκαν (2)	89
Πίνακας 12. Ανάκτηση αναλυτών μετά τις πειραματικές δοκιμές σε διαφορετικούς χρόνους ηρεμίας	90
Πίνακας 13. Ανάκτηση αναλυτών μετά τις πειραματικές δοκιμές σε διαφορετικές θερμοκρασίες δείγματος	91
Πίνακας 14. Ανάκτηση αναλυτών μετά τις πειραματικές δοκιμές σε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος Na ₂ SO ₄	92
Πίνακας 15. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης: εξίσωση της ευθείας, R, R ² , LOD, LOQ	93
Πίνακας 16. Αποτελέσματα μετρήσεων για την ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου ..	94
Πίνακας 17. Αποτελέσματα μετρήσεων αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου	94
Πίνακας 18. Ενώσεις του πρότυπου διαλύματος αλογονοξικών οξέων	97
Πίνακας 19. Αλογονοξικά οξέα που αναλύθηκαν (1)	100
Πίνακας 20. Αλογονοξικά οξέα που αναλύθηκαν (2)	101
Πίνακας 21. Αλογονοξικά οξέα που αναλύθηκαν (3)	102
Πίνακας 22. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης του πειράματος 1: εξίσωση της ευθείας, R και R ²	103
Πίνακας 23. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης του πειράματος 2: εξίσωση της ευθείας, R και R ²	104
Πίνακας 24. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης του πειράματος 3: εξίσωση της ευθείας, R και R ²	104
Πίνακας 25. Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του πειράματος 1	105
Πίνακας 26. Αποτελέσματα μετρήσεων ακρίβειας και επαναληψιμότητας της μεθόδου	106
Πίνακας 27. Αποτελέσματα μετρήσεων για την ακρίβεια και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου	106
Πίνακας 28. Αποτελέσματα δειγμάτων χημικού έλεγχου κοινών παραμέτρων	110

Πίνακας 29. Αποτελέσματα χρωματογραφικής ανάλυσης για τον προσδιορισμό αλογονομεθανίων στα δείγματα και παραμετρικές τιμές των ενώσεων	111
Πίνακας 30. Αποτελέσματα χρωματογραφικής ανάλυσης αλογονοξικών οξέων στα δείγματα και παραμετρικές τιμές των ενώσεων	112
Πίνακας 31. Μέθοδοι Προσδιορισμού Διοξειδίου του Χλωρίου, Τριαλογομεθανίων, Αλογονοξικών οξέων	123

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Κύκλος ερματισμού και αφερματισμού ^[5] 1. Στο λιμάνι αφετηρίας το πλοίο εκφορτώνει το φορτίο του και λαμβάνει θαλάσσιο έρμα 2. Το πλοίο πραγματοποιεί το ταξίδι του χωρίς φορτίο και με γεμάτες δεξαμενές έρματος 3. Το πλοίο φτάνει στο λιμάνι προορισμού του, αδειάζει τις δεξαμενές έρματος και λαμβάνει το φορτίο του. 4. Το πλοίο πραγματοποιεί το ταξίδι του γεμάτο φορτίο και με άδειες δεξαμενές έρματος.....	2
Εικόνα 2. Λογότυπο για τη συνεργασία GEF-UNDP-IMO υπό το πρόγραμμα σύμπραξης GloBallast ^[3]	5
Εικόνα 3. Mnemiopsis leidyi ^[3] «Είδος κτενοφόρου που μεταφέρθηκε από την Ανατολική ακτή της Αμερικής στις Κασπία, Μαύρη και Αζοφική Θάλασσα προκαλώντας οικονομικές επιπτώσεις»	6
Εικόνα 4. Asterias amurensis ^[11] «Είδος αστερία που εισήχθη στις ακτές της Νότιας Αυστραλίας προκαλώντας επιπτώσεις στην οικολογία και την οικονομία της περιοχής»	7
Εικόνα 5. Dreissena polymorpha ^[3] « Μύδι που μεταφέρθηκε από την Μαύρη θάλασσα, σε διάφορες περιοχές μεταβάλλοντας την τροφική αλυσίδα του οικοσυστήματος»	7
Εικόνα 6. Vibrio Cholerae ^[3] «Το δονάκιο της χολέρας, υπεύθυνο για υδατογενή και τροφιμογενή λοίμωξη στον άνθρωπο»	8
Εικόνα 7. Cercopagis rengei ^[11] « Ένα είδος υδρόβιου ψύλλου που μεταφέρθηκε μέσω του θαλάσσιου έρματος στη περιοχή της Βαλτικής θάλασσας, προκαλώντας επιπτώσεις στην οικολογία και την οικονομία»	8
Εικόνα 8. Undaria pinnatifida ^[11] «Ένα είδος φυκιού που μεταφέρεται με το θαλάσσιο έρμα ανεξαρτήτως του αναπαραγωγικού του σταδίου, προκαλώντας οικολογικές μεταβολές στο οικοσύστημα που εισέρχεται»	9
Εικόνα 9. Carcinus maenus ^[11] « Γηγενές είδος καβουριού στις ακτές του Ατλαντικού, που μεταφέρθηκε μέσω του θαλάσσιου έρματος στην Ν. Αυστραλία, Ν. Αφρική, ΗΠΑ και Ιαπωνία προκαλώντας αλλαγές στον οικότοπο».....	9
Εικόνα 10. Neogobius melanostomus ^[12] «Είδος ψαριού που μεταφέρθηκε στη Βαλτική Θάλασσα και την Βόρεια Αμερική, προκαλώντας επιπτώσεις στην οικολογία και την οικονομία των περιοχών »	10
Εικόνα 11. Eriocheir sinensis ^[11] «Γηγενές είδος καβουριού στην περιοχή της Βόρειας Ασίας, που μεταφέρθηκε σε άλλες περιοχές μεταβάλλοντας την βιοποικιλότητα και την δραστηριότητα της αλιείας»	10
Εικόνα 12. Προσαρμοσμένη εικόνα που υποδυκνείει την ύπαρξη αλγών ^[3] «Ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός αλγών, γνωστός και ως algal blooms ανάλογα με το είδος της άλγης δίνει και ένα χαρακτηριστικό χρώμα που μπορεί να είναι πράσινο, κόκκινο ή καφέ»	11
Εικόνα 13. Απαιτούμενο Πρότυπο Απόδοσης Θαλάσσιου Έρματος D-2 ^[7]	17
Εικόνα 14. Πρότυπο Απόδοσης Θαλάσσιου Έρματος της USCG σε σύγκριση με το πρότυπο IMO ^[14]	19

Εικόνα 15. Διαδικασία έγκρισης συστημάτων επεξεργασίας έρματος ^[3]	24
Εικόνα 16. Μονάδα διήθησης του συστήματος GloEn-Patrol ^[24]	25
Εικόνα 17. Μηχανισμός Υδροκυκλώνα ^[26]	26
Εικόνα 18. Σύστημα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος “ClearBallast” ^[29]	27
Εικόνα 19. Σχεδιάγραμμα συστήματος αποξυγόνωσης ^[30]	28
Εικόνα 20. Διάγραμμα συστήματος θερμικής επεξεργασίας ^[33]	28
Εικόνα 21. Απεικόνιση σχηματισμού ριζών υδροξυλίου με τεχνολογία ανεπτυγμένης οξείδωσης ^[39]	29
Εικόνα 22. Υδροδυναμική Σπηλαίωση με χρήση ειδικών πλακών ^[46]	30
Εικόνα 23. Ακουστική Σπηλαίωση ^[44]	30
Εικόνα 24. Μονάδα UV ακτινοβολίας ^[50]	31
Εικόνα 25. Μόριο χουμικής ουσίας ^[52]	39
Εικόνα 26. Παράγοντες σχηματισμού παραπροϊόντων απολύμανσης ^[66, 75]	40
Εικόνα 27. Μηχανισμός σχηματισμού τριαλογονομεθανίων, αλογονοξικών οξέων και αλογοκετόνων που προτάθηκε από τον Rook ^[76]	41
Εικόνα 28. Διάγραμμα αλοφορμικής αντίδρασης ^[85]	43
Εικόνα 29. Βασική οργανολογία φασματοφωτομέτρου ^[111]	58
Εικόνα 30. Καμπύλη Βαθμονόμησης	58
Εικόνα 31. Στάδια εκχύλισης υγρού-υγρού ^[113] (Προσαρμοσμένη εικόνα)	60
Εικόνα 32. Μηχανισμός εστεροποίησης ^[116]	61
Εικόνα 33. Απεικόνιση αέριου χρωματογράφου συζευγμένο με φασματογράφο μαζών ^[122]	62
Εικόνα 34. Αρχή μεθόδου λειτουργίας ανιχνευτή ECD ^[123] 1. β-σωματίδια εκλύονται από την ραδιενεργή πηγή, 2. Τα β-σωματίδια αντιδρούν με το make-up gas παράγοντας ελεύθερα ηλεκτρόνια, 3. Τα ηλεκτρόνια έλκονται στη θετικά φορτισμένη άνοδο – παρέχοντας ένα σταθερό σήμα μεταξύ ανόδου και καθόδου 4. Ηλεκτρωνικά στοιχεία που εκλύονται από την χρωματογραφική στήλη, δεσμέουν τα ελεύθερα ηλεκτρόνια με αποτέλεσμα την αλλαγή του σήματος	63
Εικόνα 35. Φασματοφωτόμετρο DR-2800 της Hach	72
Εικόνα 36. Χρωματισμός δείγματος ανάλογα με την συγκέντρωση διοξειδίου του χλωρίου.	74
Εικόνα 37. Καμπύλη βαθμονόμησης ClO ₂ συγκεντρώσεων 0, 0.5, 1 και 2 mg/L	75
Εικόνα 38. Απεικόνιση αέριου χρωματογράφου με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD) ^[131]	80
Εικόνα 39. Αρχική εικόνα γραμμής εργαλείων του λογισμικού TotalChrom Navigator.	82
Εικόνα 40. Διαχωρισμός χρωματογραφικών κορυφών ανάλογα με την διαχωριστική ικανότητα R _s ^[132]	83
Εικόνα 41. Θεωρητικό χρωματογράφημα των ενώσεων και οι χρόνοι έκλυσης σύμφωνα με το λογισμικό μοντελοποίησης χρωματογραφημάτων ProEZGC της Restek ^[133]	85
Εικόνα 42. Χρωματογράφημα πρότυπου δείγματος 100 ppb με μέθοδο έγχυσης χωρίς διαμοιρασμό (splitless)	86
Εικόνα 43. Χρωματογράφημα που προέκυψε μετά τη χρήση Glass-Wool στο liner του εισαγωγέα	86
Εικόνα 44. Χρωματογράφημα των ενώσεων της μεθόδου με έγχυση διαμοιρασμού 10:1 (πάνω), 5:1 (μέση), 2:1 (κάτω) σε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 80 ppb. που χρησιμοποιήθηκε. Οι αριθμημένες κορυφές αντιστοιχούν στις αντίστοιχες ενώσεις: 1. Chloroform 2. 1,1,1-Trichloroethane 3. Carbontetrachloride 4. Trichloroethene 5. Bromodichloromethane 6. Tetrachloroethene 7. Dibromochloromethane 8. 1,2-Dibromoethane, 9. Bromoform 10. 1,2-Dibromo-3-Chloropropane	87

Εικόνα 45. Χρωματογράφημα των ενώσεων πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 100ppb. Οι αριθμημένες κορυφές αντιστοιχούν στις αντίστοιχες ενώσεις: 1. Chloroform 2. 1,1,1-Trichloroethane 3. Carbon tetrachloride 4. Trichloroethene 5. Bromodichloromethane 6. Tetrachloroethene 7. Dibromochloromethane 8. 1,2-Dibromoethane, 9. Bromoform 10. 1,2-Dibromo-3-Chloropropane.....	95
Εικόνα 46. Χρωματογράφημα Αλογονοξικών οξέων της μεθόδου 552.3 της EPA ^[136]	99
Εικόνα 47. Χρωματογράφημα αλογονοξικών οξέων της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε	99
Εικόνα 48. Ουσίες που σχετίζονται με την επεξεργασία του θαλάσσιου έρματος ^[23]	122

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 1. Ανάκτηση των ουσιών σε διαφορετικό χρόνο ηρεμίας της εκχύλισης	90
Γράφημα 2. Ανάκτηση των ενώσεων σε διαφορετική θερμοκρασία εκχύλισης.....	91
Γράφημα 3. Ανάκτηση των ουσιών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος	92

Α΄ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Θαλάσσιο Έρμα

1.1. Εισαγωγή στο θαλάσσιο έρμα

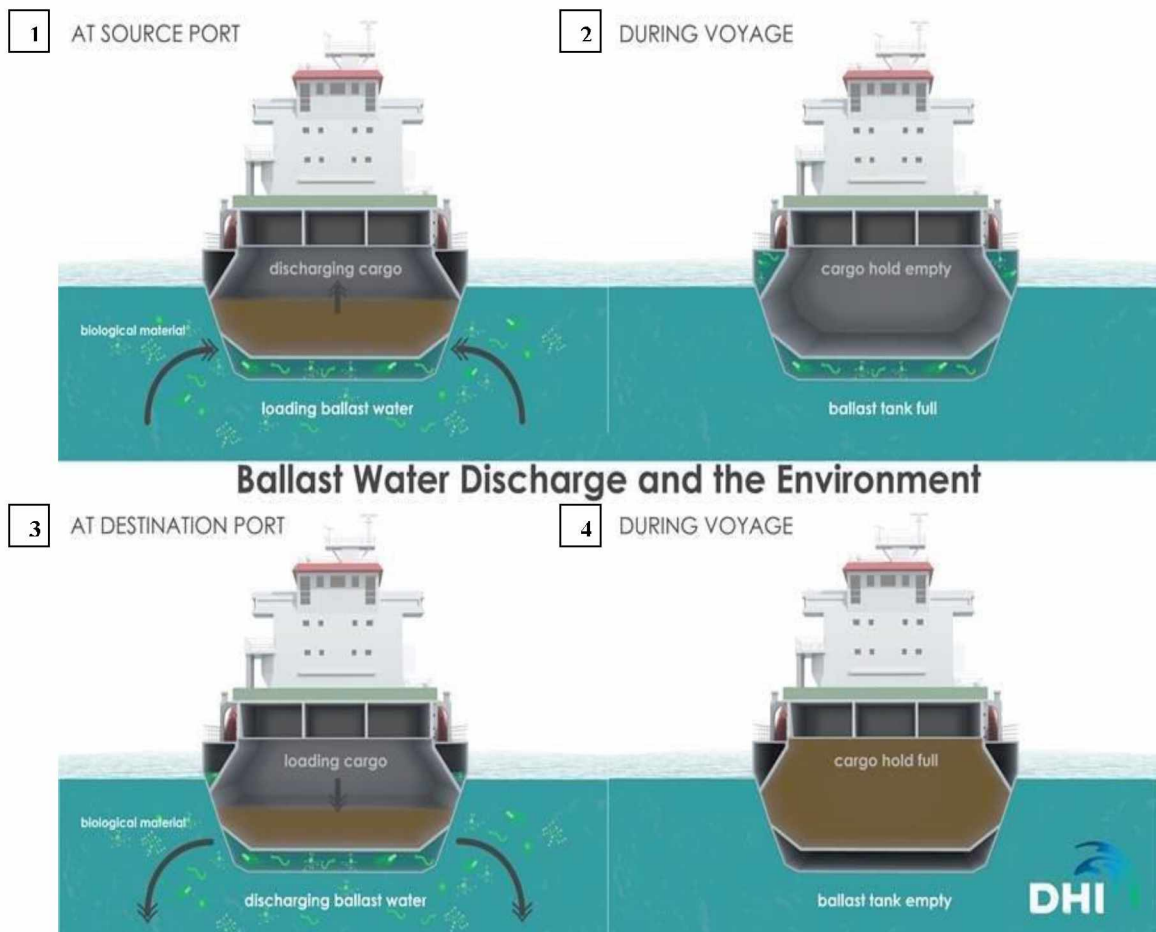
Το παγκόσμιο εμπόριο, που αφορά τη διακίνηση αγαθών, διεξάγεται κατά κύριο λόγο μέσω της ναυτιλίας. Ωστόσο, μέσω των ναυτιλιακών δραστηριοτήτων παράγονται τεράστιες ποσότητες αποβλήτων, γεγονός που καθιστά τη ναυτιλία μία από τις κυριότερες αιτίες ρύπανσης των ωκεανών παγκοσμίως^[1]. Επομένως, είναι απαραίτητο η μεταφορά των αγαθών να γίνεται με ασφάλεια, τόσο ως προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον, όσο και ως προς την οικονομία και τα αγαθά.

Τα πλοία κατασκευάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτυγχάνεται η ασφαλής πλεύση κατά την μεταφορά ενός φορτίου. Στις περιπτώσεις, όμως, που το πλοίο πρέπει να ταξιδέψει με περιορισμένο ή ακόμα και χωρίς φορτίο, είναι απαραίτητο ένα επιπλέον βάρος. Το βάρος αυτό ονομάζεται έρμα (ballast) και βοηθάει στον έλεγχο και τη διατήρηση του κέντρου βάρους ενός πλοίου, εξασφαλίζοντάς του σταθερότητα και ακεραιότητα. Επιπλέον, το έρμα βοηθάει στη βύθιση της προπέλας και του πηδαλίου, ώστε αυτά να ανταποκρίνονται στη λειτουργία τους, αλλά και στην περαιτέρω βύθιση του πλοίου, που αφενός του προσδίδει καλύτερη πλευστότητα και αφετέρου μειώνει τις δυνάμεις πίεσης που δέχεται. Επιπλέον τα πλοία ακόμα και αν έχουν φορτίο, είναι δυνατό να λάβουν έρμα κατά τη διάρκεια του ταξιδιού, με σκοπό να εξυπηρετούν κάθε φορά την αποτελεσματική και ασφαλή πλεύση τους. Υπάρχουν δύο είδη έρματος, τα οποία αποθηκεύονται σε αντίστοιχες δεξαμενές (ballast tanks). Κατά το παρελθόν, το είδος έρματος που χρησιμοποιούνταν παραδοσιακά αποτελούνταν από στερεά υλικά, όπως σάκοι με άμμο ή βάρη από τσιμέντο ή μέταλλο. Λόγω όμως της δυσκολίας φόρτωσης και εκφόρτωσής του, αντικαταστάθηκε από έρμα που αποτελείται από κάποιο υγρό. Το είδος υγρού έρματος που χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο είναι το θαλασσινό νερό (ballast water), λόγω της άμεσης διαθεσιμότητάς του και της μεγάλης ποσότητάς του^[2,3].

Οι δεξαμενές αποθήκευσης θαλάσσιου έρματος σχεδιάζονται και κατασκευάζονται κατά τη διάρκεια της ναυπήγησης ενός πλοίου. Οι δεξαμενές αυτές δέχονται συγκεκριμένο όγκο νερού και είναι κατανομημένες στο σκελετό του πλοίου, με στόχο να εξυπηρετούν την ανάλογη δραστηριότητα βύθισης. Διακρίνονται σε δεξαμενές διπλού πυθμένα (Double Bottom Tank) και σε δεξαμενές ζυγοστάθμισης (Trimming Tank). Οι δεξαμενές διπλού πυθμένα, είναι οι δεξαμενές άνω πτέρυγας (Upper Wing Tank) και οι πλευρικές δεξαμενές (Side Tank). Οι δεξαμενές ζυγοστάθμισης υπάρχουν σε όλα τα πλοία και διακρίνονται στις δεξαμενές που βρίσκονται στην πλώρη (Fore Peak Tank) και τις δεξαμενές που βρίσκονται στην πρύμνη (After Peak Tank). Το θαλάσσιο έρμα εισάγεται στις δεξαμενές μέσω αγωγών έρματος. Επίσης, η είσοδος στις δεξαμενές του θαλάσσιου έρματος από το προσωπικό του πλοίου είναι δυνατή, ώστε αυτές να καθαρίζονται ή να συντηρούνται^[4].

1.1.1. Κύκλος ερματισμού-αφερματισμού

Όταν ένα πλοίο έχει ελάχιστο ή καθόλου φορτίο, για να πλεύσει με ασφάλεια εισάγει θαλασσινό νερό στις δεξαμενές του, με τη διαδικασία του ερματισμού. Ο ερματισμός μπορεί να γίνει είτε με την βοήθεια ειδικών αντλιών (Ballast Pumps) πάνω από την ίσαλο γραμμή, είτε με τη βαρύτητα και την είσοδο του νερού από ανοίγματα σωληνώσεων που βρίσκονται κάτω από το νερό. Όταν ένα πλοίο μεταφέρει εμπόρευμα, τότε το αποθηκευμένο θαλάσσιο έρμα δεν είναι πλέον απαραίτητο και απορρίπτεται με τη διαδικασία του αφερματισμού. Ο αφερματισμός μπορεί να γίνει είτε με τη βαρύτητα μέσω ανοιχτών βαλβίδων πάνω από την ίσαλο γραμμή, είτε με χρήση αντλιών που βρίσκονται κάτω από την ίσαλο γραμμή. Επίσης, είναι δυνατό οι απαιτήσεις σε ποσότητα θαλάσσιου έρματος κατά τη διάρκεια του ταξιδιού να αλλάξουν, κυρίως λόγω των καιρικών συνθηκών. Τα πλοία είναι εξοπλισμένα με συστήματα που μετρούν τον όγκο νερού έρματος που εισέρχεται στις δεξαμενές του. Ο όγκος αυτός αντιστοιχεί συνήθως στον όγκο φορτίου που μπορεί να λάβει ένα πλοίο. Επίσης, η χρονική διάρκεια για τις διαδικασίες ερματισμού και αφερματισμού, είναι ανάλογη με το χρόνο που απαιτείται για την φόρτωση ή εκφόρτωση εμπορεύματος στο πλοίο ^[4].



Εικόνα 1. Κύκλος ερματισμού και αφερματισμού ^[5] **1.** Στο λιμάνι αφετηρίας το πλοίο εκφορτώνει το φορτίο του και λαμβάνει θαλάσσιο έρμα **2.** Το πλοίο πραγματοποιεί το ταξίδι του χωρίς φορτίο και με γεμάτες δεξαμενές έρματος **3.** Το πλοίο φτάνει στο λιμάνι προορισμού του, αδειάζει τις δεξαμενές έρματος και λαμβάνει το φορτίο του. **4.** Το πλοίο πραγματοποιεί το ταξίδι του γεμάτο φορτίο και με άδειες δεξαμενές έρματος

1.2. Βιο-εισβολή και θαλάσσιο έρμα

Καθώς η ναυτιλία αποτελεί μέσο μεταφοράς για το 90% περίπου του παγκόσμιου εμπορίου, έχει εκτιμηθεί ότι κάθε χρόνο μεταφέρονται σε όλο τον κόσμο 3-5 δισεκατομμύρια τόνοι θαλάσσιου έρματος^[3]. Με τη διαδικασία του ερματισμού εισάγεται στις δεξαμενές θαλασσινό νερό, μαζί με την αιωρούμενη ύλη του, αλλά και ιζήματα, όπως είναι η λάσπη και η άμμος, που προέρχεται από ρηχά νερά. Τα ιζήματα εγκαθίστανται στο πυθμένα της δεξαμενής και λειτουργούν ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη πληθώρας υδρόβιων ειδών. Στην αιωρούμενη ύλη περιλαμβάνονται διάφορα βακτήρια, ιοί, μύκητες, μικροάλγη, φυτοπλαγκτόν, ζωοπλαγκτόν, καθώς και κύστες ή προνύμφες διαφόρων ειδών, συμπεριλαμβανομένων των περισσότερων ψαριών. Έχει υπολογιστεί ότι με τη διαδικασία του ερματισμού μπορεί να μεταφέρονται 7.000 ως 10.000 υδρόβια είδη στις δεξαμενές του πλοίου. Αυτό, όμως, δεν σημαίνει ότι όλα αυτά τα είδη θα εισαχθούν σε άλλο περιβάλλον. Ορισμένοι μικροοργανισμοί δημιουργούν βιο-υμένια στα τοιχώματα των σωληνώσεων μεταφοράς του θαλάσσιου έρματος ή στις δεξαμενές. Άλλοι μικροοργανισμοί και υδρόβιοι οργανισμοί καταστρέφονται υπό τις συνθήκες αποθήκευσης του θαλάσσιου έρματος – λόγω απουσίας φωτός και τροφής ή λόγω των διακυμάνσεων της θερμοκρασίας – ενώ κάποιοι άλλοι καταφέρνουν και επιβιώνουν. Με τη διαδικασία του αφερματισμού, το θαλάσσιο έρμα απορρίπτεται σε ένα άλλο υδρόβιο περιβάλλον, με αποτέλεσμα την εναπόθεση των ιζημάτων του και όλων των οργανισμών και παθογόνων που επιβίωσαν σε ένα καινούργιο γεωγραφικό οικοσύστημα. Οι οργανισμοί και μικροοργανισμοί που προσαρμόζονται στις νέες περιβαλλοντικές συνθήκες, χαρακτηρίζονται ως εισαγόμενα υδρόβια είδη (Invasive Aquatic Species, IAS) και μπορούν να αναπτυχθούν, να εγκατασταθούν και να εξαπλωθούν στο νέο περιβάλλον, ενισχύοντας το φαινόμενο της βιο-εισβολής και προκαλώντας ορισμένες επιπτώσεις^[3, 6, 7].

Η εγκατάσταση και εξάπλωση των ειδών εξαρτάται από ορισμένους παράγοντες και ακολουθεί ένα μοντέλο εκτίμησης κινδύνου. Σύμφωνα με την οδηγία G7 (MEPC.289(71)), υπάρχουν τρία είδη εκτίμησης κινδύνου (risk assessment), η περιβαλλοντική αντιστοιχία (environmental matching), η βιογεωγραφική εκτίμηση των ειδών (species biogeographical) και η εκτίμηση κινδύνου ανά είδος (species-specific).

- Η εκτίμηση κινδύνου για την περιβαλλοντική αντιστοιχία παρουσιάζει τις ενδείξεις για την επιβίωση των ειδών σε ένα νέο περιβάλλον και βασίζεται στη σύγκριση των περιβαλλοντικών συνθηκών του τόπου που γίνεται ο ερματισμός με τον τόπο του αφερματισμού. Οι περιβαλλοντικές παράμετροι που συγκρίνονται είναι η θερμοκρασία, η αλατότητα, η ύπαρξη θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου.
- Η βιογεωγραφική εκτίμηση κινδύνου του είδους βοηθάει στον εντοπισμό των εισβολέων υψηλού κινδύνου, συγκρίνοντας την αλληλεπικαλυπτόμενη κατανομή των ειδών στα λιμάνια του δότη και του δέκτη, δηλαδή του λιμένα που πραγματοποιείται ο ερματισμός και του λιμένα που λαμβάνει χώρα ο αφερματισμός αντίστοιχα.
- Καθότι υπάρχουν είδη που μπορούν να επιβιώσουν σε μεγάλο εύρος θερμοκρασίας και αλατότητας, είναι σημαντικό να γίνεται η εκτίμηση επικινδυνότητας ανά είδος. Αυτή επικεντρώνεται σε πληροφορίες για την κατανομή, τα χαρακτηριστικά και τις φυσιολογικές ανοχές αναγνωρισμένων ειδών, εκτιμώντας τη δυνατότητά τους να επιβιώσουν ή να ολοκληρώσουν τον κύκλο ζωής τους στο νέο περιβάλλον^[4, 8].

1.2.1. Επιπτώσεις της βιο-εισβολής

Η εισβολή υδρόβιων οργανισμών και παθογόνων μέσω του θαλάσσιου έρματος αποτελεί μια από τις σημαντικότερες απειλές για τους ωκεανούς, καθώς μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στο περιβάλλον, στην οικονομία και στη Δημόσια Υγεία.

Οι οικολογικές επιπτώσεις της βιο-εισβολής οφείλονται στον ανταγωνισμό των εισαγόμενων οργανισμών με τα γηγενή είδη για τροφή, με αποτέλεσμα τα γηγενή είδη να εξασθενούν ή να εξαφανίζονται, αλλάζοντας τη φυσική βιοποικιλότητα. Επίσης, τα εισαγόμενα είδη αλλά και τα ιζήματα που απορρίπτονται μπορεί να προκαλέσουν μεταβολή των περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως η αύξηση της θολερότητας του νερού.

Οι οικονομικές επιπτώσεις αφορούν τόσο τις παράκτιες περιοχές και την δραστηριότητα της αλιείας, όσο και τις ναυτιλιακές εταιρίες που πρέπει να επιτύχουν τη συμμόρφωσή τους με τους Διεθνείς Κανονισμούς.

Η Δημόσια Υγεία επηρεάζεται από την είσοδο και τη διασπορά επικίνδυνων βιοτοξινών – προϊόντα φυσιολογικών βιοσυνθετικών λειτουργιών συγκεκριμένων οργανισμών – οι οποίες μεταφέρονται με την τροφική αλυσίδα. Στον άνθρωπο μπορεί να προκαλέσουν οξεία τροφική δηλητηρίαση, όπως δηλητηρίαση διαρροϊκού τύπου, αμνησιακού τύπου, παραλυτικού τύπου, νευροτοξικού τύπου ή ακόμα και θάνατο. Ένας άλλος κίνδυνος για τη Δημόσια Υγεία, είναι η είσοδος και διασπορά επικίνδυνων παθογόνων που είναι υπεύθυνα για την πρόκληση επιδημιών, καθώς και τραυματισμούς που προκαλούνται σε λουόμενους από κελύφη δίθυρων ή τσιμπήματα από μέδουσες ^[2-4, 9].

1.2.2. Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός

Η αναγνώριση και εφαρμογή νομικών μέσων στη ναυσιπλοΐα, ως λύση για την προστασία και τη βελτίωση της ασφάλειας στις θάλασσες, κωδικοποιήθηκε για πρώτη φορά στο συνέδριο της Γενεύης το 1948, όπου και δημιουργήθηκε ο Διακυβερνητικός Ναυτιλιακός Συμβουλευτικός Οργανισμός (Inter-Governmental Maritime Consultative Organization, IMCO). Πρόκειται για μια εξειδικευμένη οργάνωση με αποκλειστικό αντικείμενο τα ναυτιλιακά ζητήματα σε παγκόσμιο επίπεδο, που ανέλαβε ηγετικό ρόλο για την ανάπτυξη συνεργασιών μεταξύ των κρατών, για τη θέσπιση προτύπων που αφορούν την ασφάλεια και την αντιμετώπιση των προβλημάτων που σχετίζονται με την περιβαλλοντική ρύπανση από τα απόβλητα των πλοίων. Το 1982 ο οργανισμός μετονομάστηκε σε Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός (International Maritime Organization-IMO), συνεχίζοντας τον πρωταρχικό ρόλο ίδρυσής του και θεσπίζοντας διεθνείς συμβάσεις στη ναυσιπλοΐα.

Μια ενέργεια για την πρόληψη ή μείωση των εισαγόμενων ειδών μέσω της ναυτιλίας, ήταν η επικύρωση της Διεθνούς Σύμβασης για τη Διαχείριση του Θαλάσσιου Έρματος και των Ιζημάτων του, το 2004. Ακόμα, για την εφαρμογή της σύμβασης, εκδόθηκαν και ορισμένες κατευθυντήριες οδηγίες (G1-G14) από την Επιτροπή Προστασίας Θαλάσσιου Περιβάλλοντος του IMO (Marine Environment Protection Committee, MECP), οι οποίες αναθεωρούνται ανά τακτά χρονικά διαστήματα ^[8].

ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΣΥΜΒΑΣΗΣ

Οδηγία	Τίτλος οδηγίας	Ψήφισμα
G1	Guidelines for Sediment Reception Facilities	MEPC.152(55)
G2	Guidelines for Ballast Water Sampling	MEPC.173(58)
G3	Guidelines for Ballast Water Management Equivalent Compliance	MEPC.123(53)
G4	Guidelines for Ballast Water Management & Development of Ballast Water Management Plans	MEPC.127(53)
G5	Guidelines for Ballast Water Reception Facilities	MEPC.153 (55)
G6	Guidelines for Ballast Water Exchange	MEPC.124(53) MEPC.288(71)
G7	Guidelines for Risk Assessment under regulation A-4 of the BWM Convention	MEPC.162(56) MEPC.289(71)
G8	Guidelines for Approval of BW Management Systems	MEPC.174(58) MEPC.279(70)
G9	Guidelines for Approval of BWMS that Make Use of Active Substances	MEPC.169(57)
G10	Guidelines for Approval & Oversight of Prototype BW Treatment Technology Programmes	MEPC.140(54)
G11	Guidelines for BW Exchange Design & Construction Standards	MEPC.149(55)
G12	Guidelines for Design & Construction to Facilitate Sediment Control on ships	MEPC.150(55) MEPC.209(63)
G13	Guidelines for Additional Measures regarding BWM Including Emergency Situations	MEPC.161(56)
G14	Guidelines for Designation of Areas for BW Exchange	MEPC.151(55)

Υφίσταται στενή συνεργασία του Διεθνούς Ναυτιλιακού Οργανισμού με το Παγκόσμιο Ταμείο για την Προστασία του Περιβάλλοντος (Global Environment Facility, GEF) και το Πρόγραμμα Ανάπτυξης των Ηνωμένων Εθνών (United Nations Development Programme, UNDP). Η συνεργασία GEF-UNDP-IMO, υπό το πρόγραμμα συμπράξεων GloBallast, αποσκοπεί στο να βοηθήσει τις αναπτυσσόμενες χώρες να μειώσουν τη μεταφορά υδρόβιων οργανισμών και παθογόνων και να εφαρμόσουν τη Διεθνή Σύμβαση για τη διαχείριση του θαλάσσιου έρματος και των ιζημάτων του ^[3].



Εικόνα 2. Λογότυπο για τη συνεργασία GEF-UNDP-IMO υπό το πρόγραμμα σύμπραξης GloBallast ^[3]

1.2.3. Παραδείγματα εισαγόμενων ειδών

Υπάρχουν πολλά παραδείγματα οργανισμών και μικροοργανισμών που έχουν εγκατασταθεί σε νέες περιοχές, με τεράστιες επιπτώσεις. Η ομάδα εργασίας για το έρμα και άλλους φορείς πλοίων (Working Group on Ballast and Other Ship Vectors, WGBOSV), αποτελεί μια συνεργασία του Διεθνούς Ναυτιλιακού Οργανισμού (IMO) με την Διακυβερνητική Ωκεανογραφική Επιτροπή της UNESCO (Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, IOC) και το Διεθνές Συμβούλιο για την Εξερεύνηση της Θάλασσας (International Council for the Exploration of the Sea, ICES). Η ομάδα αυτή έχει ως σκοπό να παρέχει επιστημονική υποστήριξη στην ανάπτυξη μέτρων, όπως είναι οι μέθοδοι εκτίμησης κινδύνου και οι τεχνικές επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος, καθώς και προτάσεις που αφορούν στη δειγματοληψία του έρματος, έτσι ώστε να επιτευχθεί μείωση του κινδύνου μεταφοράς ξένων υδρόβιων ειδών μέσω της ναυτιλίας ^[10]. Τα 10 πιο σημαντικά ανεπιθύμητα υδρόβια είδη (Invasive Aquatic Species, IAS), αποτελούν τα:

- **Mnemiopsis leidyi**, γνωστό και ως comb jelly: Πρόκειται για ένα είδος κτενοφόρου που απαντάται φυσιολογικά στην Ανατολική ακτή της Αμερικής. Έχει εισαχθεί μέσω θαλάσσιου έρματος στην Μαύρη θάλασσα, στη θάλασσα του Αζόφ και στην Κασπία θάλασσα. Το είδος αυτό αναπαράγεται πολύ γρήγορα και καταναλώνει το ζωοπλαγκτόν, γεγονός που είχε αντίκτυπο στην οικονομία και στη κοινωνία των περιοχών της Μαύρης θάλασσας και της θάλασσας του Αζόφ, αφού επηρέασε σε μεγάλο βαθμό την δραστηριότητα της αλιείας. Παρόμοιες επιπτώσεις της εισαγωγής του παρατηρήθηκαν και στην Κασπία Θάλασσα. Η τυχαία εισαγωγή ενός άλλου κτενοφόρου, του *Beroe ovata*, στην Κασπία Θάλασσα, οδήγησε σε μείωση του *Mnemiopsis leidyi* και στην ανάκαμψη των αρνητικών επιπτώσεων της εισαγωγής του ^[3, 8].



Εικόνα 3. *Mnemiopsis leidyi*^[3] «Είδος κτενοφόρου που μεταφέρθηκε από την Ανατολική ακτή της Αμερικής στις Κασπία, Μαύρη και Αζοφική Θάλασσα προκαλώντας οικονομικές επιπτώσεις»

- **Asterias amurensis**: Πρόκειται για αστερία που απαντάται ως γηγενές είδος στο Βόρειο Ειρηνικό ωκεανό και εισήχθη στις ακτές της Νότιας Αυστραλίας. Αναπαράγεται σε μεγάλους αριθμούς, εγκαθίσταται εύκολα σε νέα περιβάλλοντα λόγω της αντοχής που παρουσιάζει σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών και αλατότητας. Η εισαγωγή του σε ένα νέο οικοσύστημα έχει οικολογικό και οικονομικό αντίκτυπο, καθώς είναι θηρευτής οστρακοειδών εμπορικής αξίας, όπως είναι τα χτένη, τα στρείδια και οι αχιβάδες ^[8, 11].



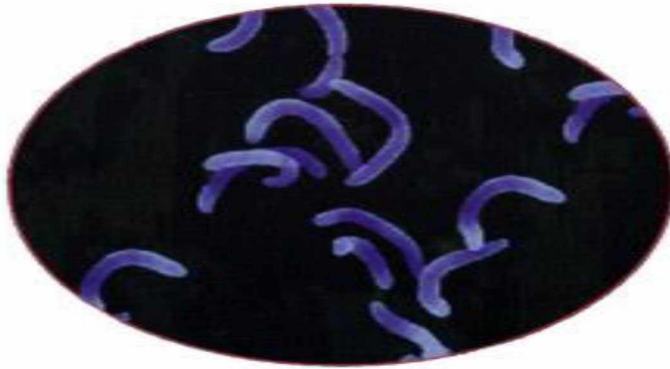
Εικόνα 4. *Asterias amurensis*^[1] «Είδος αστερία που εισήχθη στις ακτές της Νότιας Αυστραλίας προκαλώντας επιπτώσεις στην οικολογία και την οικονομία της περιοχής»

- ***Dreissena polymorpha***, γνωστό και ως zebra mussel: Είναι ένα μικρό μύδι που απαντάται φυσιολογικά στη Μαύρη Θάλασσα και μεταφέρθηκε στην Ανατολική περιοχή της Βόρειας Αμερικής, στη Δυτική και Βόρεια Ευρώπη, συμπεριλαμβανομένης της Ιρλανδίας και της Βαλτικής Θάλασσας. Τα μύδια αυτά ανταγωνίζονται το ζωοπλαγκτόν για τροφή, υπερισχύουν έναντι των γηγενών ειδών και οδηγούν σε μεταβολές στην τροφική αλυσίδα. Επιπλέον, έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται σε επιφάνειες, όπως είναι το κύτος του πλοίου, η άγκυρα και τα συστήματα σωληνώσεων, προκαλώντας βλάβες που συνεπάγονται οικονομικές επιπτώσεις ^[3, 8].



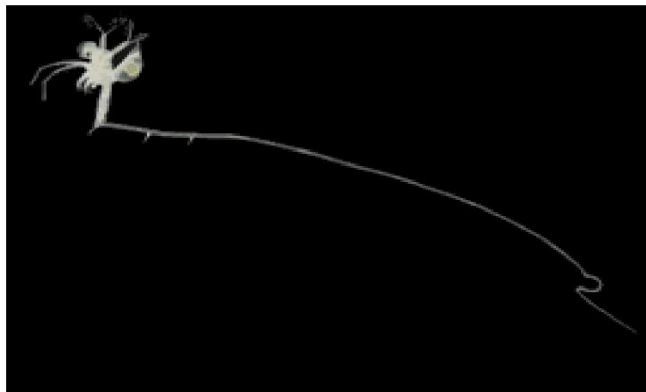
Εικόνα 5. *Dreissena polymorpha*^[3] « Μύδι που μεταφέρθηκε από την Μαύρη θάλασσα, σε διάφορες περιοχές μεταβάλλοντας την τροφική αλυσίδα του οικοσυστήματος»

- ***Vibrio cholerae***: Το Δονάκιο της Χολέρας είναι ένα αρνητικό Gram βακτηρίδιο, που προκαλεί οξεία εντερική λοίμωξη στον άνθρωπο. Υπάρχουν αρκετά στελέχη που εμφανίστηκαν στη Νότια Αμερική, στο κόλπο του Μεξικού, αλλά και σε άλλες περιοχές. Η παρουσία του είτε στο νερό είτε σε τρόφιμα προκαλεί επιδημίες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η κατανάλωση θαλασσινών από περιοχές που έχουν ενοικιστεί με *Vibrio cholerae*, καθώς αυτό προσκολλάται στα κελύφη των οστρακοειδών που περιέχουν χιτίνη, όπως είναι τα καβούρια και οι γαρίδες ^[3, 8].



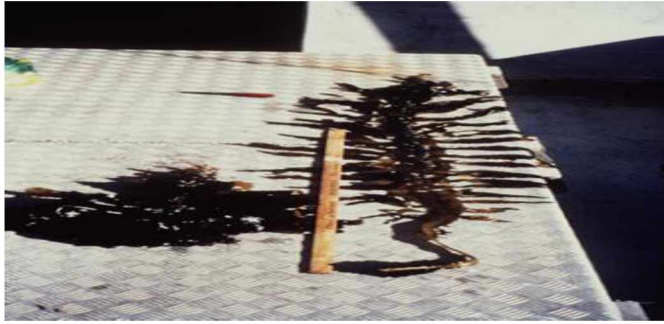
Εικόνα 6. *Vibrio Cholerae*^[3] «Το δονάκιο της χολέρας, υπεύθυνο για υδατογενή και τροφιμογενή λοίμωξη στον άνθρωπο»

- ***Cercopagis pengoi***, γνωστό και ως Cladoceran Water Flea: Πρόκειται για ένα είδος υδρόβιου ψύλλου που βρίσκεται στα νερά της Μαύρης και της Κασπίας Θάλασσας και παρατηρήθηκε ως εισαγόμενο είδος στα νερά της Βαλτικής Θάλασσας. Το είδος αυτό τρέφεται με ζωοπλαγκτόν και ανταγωνίζεται με νεαρά ψάρια για τροφή, οδηγώντας σε οικολογικές μεταβολές και μείωση ορισμένων γηγενών ειδών. Είναι ικανό να σχηματίζει μεγάλους πληθυσμούς που φράσσουν τα δίχτυα των αλιευτικών, προκαλώντας οικονομικές επιπτώσεις^[8].



Εικόνα 7. *Cercopagis pengoi*^[11] «Ένα είδος υδρόβιου ψύλλου που μεταφέρθηκε μέσω του θαλάσσιου έρματος στη περιοχή της Βαλτικής θάλασσας, προκαλώντας επιπτώσεις στην οικολογία και την οικονομία»

- ***Undaria pinnatifida***: Είδος φυκιού που ευδοκίμει στη Βόρεια Ασία, ενώ έχει εμφανιστεί στις ακτές της Νότιας Αυστραλίας, της Νέας Ζηλανδίας, των Ηνωμένων Πολιτειών, της Ευρώπης και της Αργεντινής. Έχει την ικανότητα να πολλαπλασιάζεται με γρήγορους ρυθμούς, τόσο μακροσκοπικά ως σποριόφυτο, όσο και μικροσκοπικά με τη διασπορά σπορίων, ως γαμετόφυτο. Μπορεί να μεταφερθεί με το θαλάσσιο έρμα ανεξάρτητα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται. Η εισαγωγή του σε ένα νέο περιβάλλον εκτοπίζει τη φυσική άλγη και επηρεάζει τη θαλάσσια ζωή, προκαλώντας αλλαγές στον οικοτόπο. Ακόμα, μπορεί να επηρεάσει τα αποθέματα οστράκων, λόγω ανταγωνισμού στο χώρο και να προκαλέσει οικονομικά ζητήματα, καθώς ρυπαίνει τον εξοπλισμό των υδατοκαλλιέργειών^[8, 11].



Εικόνα 8. *Undaria pinnatifida*^[11] «Ένα είδος φυκιού που μεταφέρεται με το θαλάσσιο έρμα ανεξαρτήτως του αναπαραγωγικού του σταδίου, προκαλώντας οικολογικές μεταβολές στο οικοσύστημα που εισέρχεται»

- ***Carcinus maenus***: Πρόκειται για καβούρι, που απαντάται φυσιολογικά στις Ευρωπαϊκές ακτές του Ατλαντικού. Εντοπίστηκε σε περιοχές της Νότιας Αυστραλίας, της Νότιας Αφρικής, των Ηνωμένων Πολιτειών και της Ιαπωνίας. Στα είδη με τα οποία τρέφεται συγκαταλέγονται τα μαλάκια, οι αχιβάδες, τα μύδια και διάφορα είδη ψαριών. Επίσης, ανταγωνίζεται τα γηγενή καβούρια για τροφή, με αποτέλεσμα να τα εκτοπίζει και να γίνονται το κυρίαρχο είδος σε περιοχές που εισάγεται ^[3, 8].



Εικόνα 9. *Carcinus maenus*^[11] «Γηγενές είδος καβουριού στις ακτές του Ατλαντικού, που μεταφέρθηκε μέσω του θαλάσσιου έρματος στην Ν. Αυστραλία, Ν. Αφρική, ΗΠΑ και Ιαπωνία προκαλώντας αλλαγές στον οικότοπο»

- ***Neogobius melanostomus***: Το ψάρι αυτό αποτελεί γηγενές είδος στη Μαύρη, Αζοφική και Κασπία θάλασσα. Παρουσιάστηκε ως εισαγόμενο είδος στην Βαλτική θάλασσα και τη Βόρεια Αμερική. Έχει την ικανότητα να προσαρμόζεται γρήγορα σε νέες περιβαλλοντικές συνθήκες και να πολλαπλασιάζεται ταχέως. Η εμφάνιση του σε μία περιοχή έχει μεγάλες επιπτώσεις στη μεταβολή της βιοποικιλότητας και στην οικονομία, καθώς ανταγωνίζεται τα γηγενή είδη για τροφή και μπορεί να τρέφεται με τα αυγά τους ^[8]. Η εμφάνιση του, όμως, σε ένα οικοσύστημα, μπορεί να έχει και θετικές επιδράσεις, όπως έγινε στη λίμνη Ήρι (Lake Erie). Το *Neogobius melanostomus* οδήγησε στην αύξηση του αριθμού των νερόφιδων της λίμνης, καθώς αποτέλεσε τροφή για αυτά, εκτοπίζοντάς τα από τον κατάλογο των ειδών που απειλούνταν από εξαφάνιση ^[12].



Εικόνα 10. *Neogobius melanostomus*^[12] «Είδος ψαριού που μεταφέρθηκε στη Βαλτική Θάλασσα και την Βόρεια Αμερική, προκαλώντας επιπτώσεις στην οικολογία και την οικονομία των περιοχών»

- **Eriocheir sinensis**, γνωστά και με την ονομασία Chinese mitten crab. Πρόκειται για ένα καβούρι που ευδοκimeί στη Βόρεια Ασία και καταγράφηκε ως εισαγόμενο είδος στη Δυτική Ευρώπη, στη Βαλτική Θάλασσα και στη δυτική ακτή της Βόρειας Αμερικής. Η εγκατάστασή του σε ένα περιβάλλον είναι υπεύθυνη για μεταβολές στην βιοποικιλότητα και έχει επιπτώσεις στην αλιεία, καθώς τρέφεται με τα ιθαγενή είδη, προκαλώντας την εξαφάνισή αυτών, αλλά και καταστρέφοντας τα δίχτυα των αλιευτικών^[8]. Ακόμη, στην Ασία έχει αντίκτυπο στη Δημόσια Υγεία, καθώς έχουν καταγραφεί περιστατικά λοίμωξης από το παράσιτο *Paragonimus westermanii*, που έχει ως ενδιάμεσο ξενιστή το καβούρι αυτό και προσβάλλει τους πνεύμονες^[11].



Εικόνα 11. *Eriocheir sinensis*^[11] «Γηγενές είδος καβουριού στην περιοχή της Βόρειας Ασίας, που μεταφέρθηκε σε άλλες περιοχές μεταβάλλοντας την βιοποικιλότητα και την δραστηριότητα της αλιείας»

- **Toxic algae**: Υπάρχουν αρκετά είδη τοξικής άλγης σε διάφορες περιοχές που μεταφέρθηκαν σε άλλες μέσω του θαλάσσιου έρματος. Οι άλγες αυτές, όταν πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα, γίνονται αντιληπτές στην επιφάνεια της θάλασσας. Ανάλογα με το είδος της άλγης που είναι σε έξαρση, οι ανθίσεις αυτές έχουν ένα χαρακτηριστικό κόκκινο, πράσινο ή καφέ χρώμα (red/green/brown tides). Οι εξάρσεις αυτές χαρακτηρίζονται ως επικίνδυνες ανθίσεις άλγης (Harmful algal blooms) όταν οι άλγες απελευθερώνουν τοξίνες. Οι τοξίνες μπορεί να είναι τοξικές για τα υδρόβια είδη και να προκαλέσουν το θάνατό τους. Ακόμη, είναι δυνατό να περάσουν μέσω της τροφικής αλυσίδας σε ανώτερους οργανισμούς. Η κατανάλωση θαλασσινών που περιέχουν τοξίνες μπορούν δυνητικά να προκαλέσουν στον άνθρωπο οξείες τροφικές δηλητηριάσεις ή ακόμα και θάνατο. Επιπλέον, υπάρχουν είδη αλγών που δεν παράγουν τοξίνες, αλλά καταφέρνουν και μειώνουν τον πληθυσμό των υδρόβιων

ειδών, με αντίκτυπο στην οικολογία και την οικονομία, είτε γιατί καταναλώνουν το οξυγόνο που υπάρχει είτε γιατί φράσσουν τα βράγγια των ψαριών. Τέλος, η ύπαρξη των πυκνών συγκεντρώσεων των αλγών, επηρεάζει τον τουρισμό των παράκτιων περιοχών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αλγών αποτελούν τα δινομαστιγωτά (dinoflagellates) *Alexandrium minutum* και *Gymnodinium catenatum*, που εντοπίστηκαν στις ακτές της Αυστραλίας^[3, 8].



Εικόνα 12. Προσαρμοσμένη εικόνα που υποδεικνύει την ύπαρξη αλγών^[3] «Ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός αλγών, γνωστός και ως algal blooms ανάλογα με το είδος της άλγης δίνει και ένα χαρακτηριστικό χρώμα που μπορεί να είναι πράσινο, κόκκινο ή καφέ»

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Διαχείριση και έλεγχος του Θαλάσσιου Έρματος και των Ιζημάτων του

2.1. Διεθνής Σύμβαση για τον έλεγχο και τη Διαχείριση θαλάσσιου έρματος και των ιζημάτων του

Η διαδικασία ερματισμού και αφερματισμού ενός πλοίου αποτελεί ένα παγκόσμιο ζήτημα, το οποίο έχει επιπτώσεις στο περιβάλλον, την ανθρώπινη υγεία και την οικονομία. Για τον περιορισμό και έλεγχο αυτών των επιπτώσεων, ο Διεθνής Ναυτιλιακός Οργανισμός επικύρωσε το 2004 τη **Διεθνή Σύμβαση για τον Έλεγχο και τη Διαχείριση του Θαλάσσιου Έρματος και των Ιζημάτων του**, που προέρχονται από πλοία (International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments – BWMC). Παράλληλα, εκδόθηκαν κατευθυντήριες οδηγίες (G1-G14) για την εφαρμογή της σύμβασης. Η σύμβαση θα τεθεί σε ισχύ για 12 μήνες μετά την ημερομηνία αποδοχής της από τουλάχιστον 30 κράτη, που αντιπροσωπεύουν το 35% της παγκόσμιας εμπορικής ναυτιλίας. Η σύμβαση τέθηκε σε ισχύ το 2017 και έφτασε το 2020 να είναι αποδεκτή από 84 κράτη, τα οποία αντιπροσωπεύουν το 91,10% του παγκόσμιου εμπορικού στόλου. Αποτελείται από 22 Άρθρα (Articles) και 1 Παράρτημα (Annex) με 5 Ενότητες (Sections) –A, B, C, D, E –οι οποίες περιλαμβάνουν οδηγίες για τα τεχνικά πρότυπα και τις απαιτήσεις που σχετίζονται με τους Κανονισμούς για τον Έλεγχο και τη Διαχείριση του Θαλάσσιου Έρματος και των Ιζημάτων του ^[8, 13].

Η σύμβαση εφαρμόζεται σε όλους τους τύπους πλοίων των κρατών που την έχουν επικυρώσει, είτε σαν κράτος πλοιοκτησίας είτε ως κράτος-σημείας. Σε αυτά συμπεριλαμβάνονται τα υποβρύχια, τα πλωτά σκάφη, οι πλωτές πλατφόρμες, οι πλωτές μονάδες αποθήκευσης (Floating Storage Units, FSU) και οι πλωτές μονάδες παραγωγής, αποθήκευσης και εκφόρτωσης (Floating Production Storage and Offloading Facilities, FPSO). Σύμφωνα με το άρθρο 3, εξαιρούνται:

- Πλοία που από τη σχεδίαση τους δεν μεταφέρουν θαλάσσιο έρμα
- Πλοία που μεταφέρουν μόνιμο θαλάσσιο έρμα σε σφραγισμένες δεξαμενές
- Πολεμικά και κρατικά πλοία μη εμπορικής χρήσης

Ακόμα εξαιρούνται – εκτός αν κριθεί αναγκαίο για την προστασία της θάλασσας:

- Πλοία που δεν δραστηριοποιούνται σε διεθνή ύδατα
- Πλοία που δραστηριοποιούνται σε μία μόνο περιοχή ενός Συμβαλλόμενου κράτους ή μεταξύ Συμβαλλόμενου κράτους και της ανοιχτής θάλασσας

Οι περιοχές όπου τελείται η διαδικασία του ερματισμού έχουν καθοριστεί από τον IMO, με βάση ορισμένα χαρακτηριστικά στις οδηγίες G4. Υπάρχει, όμως, η δυνατότητα τα κράτη να ορίσουν συγκεκριμένες περιοχές για τις διαδικασίες ερματισμού και αφερματισμού.

Γενικά, ο ερματισμός πρέπει να αποφεύγεται:

- Από περιοχές που υπάρχουν γνωστές εστίες ή εξάρσεις ορισμένων οργανισμών ή μικροοργανισμών
- Από περιοχές όπου υπάρχει έξαρση αλγών
- Από ρηγά νερά, όπου οι προπέλες είναι δυνατό να αναδεύσουν τα υφιστάμενα ιζήματα
- Από περιοχές που έχει γίνει πρόσφατα βυθοκόρηση
- Από κοντινές περιοχές διάθεσης λυμάτων
- Από περιοχές με έντονα ή ελάχιστα παλιρροϊκά ρεύματα
- Από Ιδιαίτερα Ευαίσθητες Θαλάσσιες Περιοχές

Ως Ιδιαίτερα Ευαίσθητες Θαλάσσιες Περιοχές (Particularly Sensitive Sea Areas, PSSA) χαρακτηρίζονται περιοχές που παρουσιάζουν οικολογικό, οικονομικό και επιστημονικό ενδιαφέρον. Οι περιοχές αυτές προστατεύονται με επιπρόσθετα μέτρα που καθορίζονται από τον IMO, όπως είναι η αποφυγή διαδικασίας ερματισμού και αφερματισμού και ορισμένες φορές η αλλαγή της πορείας του πλοίου ^[8].

Στα πλοία που δεν συμμορφώνονται με τις απαιτήσεις της σύμβασης ή με τα πρόσθετα μέτρα που έχει ορίσει το κάθε κράτος, επιβάλλονται κυρώσεις. Αφού συλληχθούν στοιχεία που αποδεικνύουν την παραβίαση, οι κυρώσεις επιβάλλονται σύμφωνα με το Δίκαιο είτε της Αρχής του πλοίου, δηλαδή από το κράτος υπό το οποίο λειτουργεί το πλοίο, είτε του κράτους που καταχώρησε την παραβίαση. Σε κάθε περίπτωση, οι κυρώσεις που προβλέπονται είναι πολύ αυστηρές, ώστε τα πλοία να αποφεύγουν οποιαδήποτε παραβίαση. Πλοία μίας Αρχής που πλέουν σε ύδατα ενός άλλου κράτους υπόκεινται στον έλεγχο και σε επιθεωρήσεις, ώστε να διασφαλιστεί η συμμόρφωσή τους με τους κανονισμούς που έχουν τεθεί. Σε περίπτωση μη συμμόρφωσης, μπορεί να ληφθούν μέτρα προειδοποίησης, κράτησης ή αποκλεισμού του πλοίου και απαγόρευση της διαδικασίας του αφερματισμού. Τα πλοία μπορούν να ζητήσουν αποζημίωση όταν υπάρχει αδικαιολόγητη κράτηση ή καθυστέρηση του πλού τους ^[8].

Ενότητα Α – Γενικές Διατάξεις

Στην ενότητα Α της σύμβασης παρατίθενται οι γενικές διατάξεις, που αφορούν σε διάφορους ορισμούς καθώς και στις περιπτώσεις όπου τα πλοία μπορούν να εξαιρεθούν από τους κανονισμούς της σύμβασης. Σύμφωνα με τον κανονισμό A-3, οι απαιτήσεις που ορίζει ο Κανονισμός B-3 ή τα μέτρα που λαμβάνονται από το άρθρο 2.3. και την ενότητα C δεν εφαρμόζονται όταν ^[8]:

- Η πρόσληψη ή απόρριψη θαλάσσιου έρματος πραγματοποιείται για να εξασφαλιστεί η ασφάλεια του πλοίου σε καταστάσεις έκτακτης ανάγκης ή για τη διάσωση ζωής στη θάλασσα.
- Η απόρριψη ή εισροή έρματος συμβαίνει λόγω κάποιας βλάβης στο πλοίο ή στον εξοπλισμό.
- Η πρόσληψη ή απόρριψη έρματος πραγματοποιείται για αποφυγή ή μείωση της ρύπανσης της θάλασσας.
- Η πρόσληψη και έπειτα η απόρριψη του έρματος συμβαίνει στο τόπο προέλευσης του έρματος.
- Η απόρριψη του έρματος στον τόπο προέλευσης του πραγματοποιείται χωρίς να έχει συμβεί κάποια ανάμειξη με νέο έρμα.

Ενότητα Β – Απαιτήσεις διαχείρισης και ελέγχου για πλοία

Κανονισμός Β-1

Σύμφωνα με το κανονισμό Β-1, όλα τα πλοία πρέπει να ακολουθούν ένα συγκεκριμένο σχέδιο διαχείρισης έρματος. Το σχέδιο αυτό περιλαμβάνει λεπτομερώς τις διαδικασίες που ακολουθούνται για την ασφάλεια του πλοίου και τη διαχείριση του έρματος και των ιζημάτων του ^[8].

Κανονισμός Β-2

Σύμφωνα με τον κανονισμό Β-2, όλα τα πλοία υποχρεούνται να τηρούν αρχείο καταγραφής θαλάσσιου έρματος (Ballast Water Record Book). Σε αυτό πρέπει να αναφέρονται ρητά τα στοιχεία του πλοίου, ο αριθμός ΙΜΟ και το κράτος σημαία, καθώς και να καταγράφονται όλες οι διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στο πλοίο και αφορούν την διαδικασία του ερματισμού, τη διαχείριση του έρματος και τη διαδικασία αφερματισμού. Το αρχείο οφείλει να είναι άμεσα διαθέσιμο προς επιθεώρηση οποιαδήποτε στιγμή ^[8].

Κανονισμός Β-3

Στο κανονισμό Β-3, δίνεται το χρονοδιάγραμμα εφαρμογής του σχεδίου διαχείρισης έρματος. Σύμφωνα με το ψήφισμα ΜΕΡC 71/2017, όλα τα πλοία θα πρέπει να εφαρμόζουν είτε ανταλλαγή έρματος (Κανονισμός D-1) είτε να εγκαταστήσουν συστήματα για την επεξεργασία έρματος (Κανονισμός D-2). Πιο συγκεκριμένα, το τροποποιημένο χρονοδιάγραμμα αναφέρει τα εξής ^[8]:

- Τα πλοία που κατασκευάστηκαν πριν από το 2009 και έχουν χωρητικότητα θαλάσσιου έρματος μεταξύ 1.500 και 5.000 m³, πρέπει να πραγματοποιούν ανταλλαγή (Κανονισμός D-1) ή επεξεργασία (Κανονισμός D-2) έρματος μέχρι την ημερομηνία της επιθεώρησης ανανέωσης. Μετά την επιθεώρηση, πρέπει να πραγματοποιούν επεξεργασία έρματος.
- Τα πλοία που κατασκευάστηκαν πριν από το 2009 με χωρητικότητα θαλάσσιου έρματος κάτω των 1.500 m³ ή άνω των 5.000 m³ πρέπει να κάνουν ανταλλαγή (Κανονισμός D-1) ή επεξεργασία (Κανονισμός D-2) έρματος μέχρι την ημερομηνία της επιθεώρησης. Μετά από αυτή, πρέπει να πραγματοποιούν επεξεργασία έρματος (Κανονισμός D-2).
- Τα πλοία που κατασκευάστηκαν εντός ή μετά το 2009 και πριν τις 8 Σεπτεμβρίου του 2017 με χωρητικότητα θαλασσίου έρματος κάτω των 5.000 m³ εφαρμόζουν επεξεργασία έρματος (Κανονισμός D-2) μετά την ημερομηνία επιθεώρησης τους.
- Τα πλοία που κατασκευάστηκαν εντός ή μετά το 2009 και πριν το 2012, με ολική χωρητικότητα ίση ή πάνω από 5.000 m³ πρέπει να κάνουν ανταλλαγή (Κανονισμός D-1) ή επεξεργασία (Κανονισμός D-2) έρματος μέχρι την ημερομηνία της επιθεώρησης. Μετά από αυτή, πρέπει να πραγματοποιούν επεξεργασία έρματος (Κανονισμός D-2).
- Τα πλοία που κατασκευάστηκαν εντός ή μετά το 2009 και πριν τις 8 Σεπτεμβρίου του 2017 με χωρητικότητα θαλασσίου έρματος ίση ή πάνω από

5.000 m³ πρέπει να πραγματοποιούν επεξεργασία θαλάσσιου έρματος (Κανονισμός D-2) μετά την ημερομηνία της επιθεώρησης

- Τα πλοία που κατασκευάστηκαν εντός ή μετά τις 8 Σεπτεμβρίου 2017 εφαρμόζουν υποχρεωτικά την επεξεργασία του θαλάσσιου έρματος (Κανονισμός D-2)

Η ημερομηνία επιθεώρησης καθορίζεται από τον Οργανισμό, σύμφωνα με την ημερομηνία έναρξης ισχύος της σύμβασης και την ημερομηνία επιθεώρησης για το Διεθνές Πιστοποιητικό Πρόληψης της Ρύπανσης από Πετρέλαιο (International Oil Pollution Prevention Certificate, IOPP) ^[8].

A) Η πρώτη επιθεώρηση αφορά τους ελέγχους που:

1) ολοκληρώθηκαν εντός ή μετά τις 8 Σεπτεμβρίου 2019

ή

2) ολοκληρώθηκαν στις 8 Σεπτεμβρίου 2014 ή αργότερα, αλλά πριν από τις 8 Σεπτεμβρίου 2017

B) Η δεύτερη επιθεώρηση ανανέωσης καθορίζεται με βάση τη πρώτη επιθεώρηση μετά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της σύμβασης. Η δεύτερη επιθεώρηση θα πρέπει να έχει ολοκληρωθεί πριν από τις 8 Σεπτεμβρίου 2019, αλλά όχι κατά τις ημερομηνίες που δίνονται στη παράγραφο A-2.

Πλοία που κατασκευάζονται πριν από τις 8 Σεπτεμβρίου 2017 και στα οποία δεν έχει εφαρμοστεί κάποια επιθεώρηση σύμφωνα με τις ημερομηνίες, πρέπει να εφαρμόσουν ένα σύστημα διαχείρισης έρματος που να ανταποκρίνεται στο κανονισμό D-2 έπειτα από την ημερομηνία παράτασης που καθορίζεται από τον Οργανισμό, αλλά όχι αργότερα από τις 8 Σεπτεμβρίου 2024 ^[8].

Κανονισμός B-4

Ο κανονισμός B-4, αναφέρεται στις απαιτήσεις για την ανταλλαγή του θαλάσσιου έρματος. Η ανταλλαγή θα πρέπει να γίνεται σε απόσταση τουλάχιστον 200 ναυτικών μιλίων από την ξηρά και σε βάθος μεγαλύτερο από 200 μέτρα. Αν όμως αυτό δεν είναι δυνατό, τότε η ανταλλαγή πρέπει να γίνεται όσο δυνατόν πιο μακριά από την ξηρά και σε κάθε περίπτωση τουλάχιστον 50 ναυτικά μίλια από τη ξηρά και σε βάθος νερού τουλάχιστον 200 μέτρα. Ο καθορισμός του σημείου ανταλλαγής γίνεται κατά κανόνα από τη Σύμβαση, παρ' όλα αυτά είναι δυνατό κάθε κράτος να ορίσει συγκεκριμένες περιοχές για τη διαδικασία ανταλλαγής. Σε περίπτωση ύπαρξης κάποιου κινδύνου για την ασφάλεια του πλοίου ή του πληρώματος, δεν πρέπει να υπάρχει καθυστέρηση του πλού ή αλλαγή πορείας του πλοίου ώστε να υπάρχει συμμόρφωση με τις αποστάσεις ανταλλαγής θαλάσσιου έρματος που ορίζει ο κανονισμός. Οι λόγοι για τους οποίους δεν τελείται η διαδικασία ανταλλαγής έρματος, πρέπει να καταγράφονται στο βιβλίο έρματος του πλοίου ^[8].

Οι κανονισμοί B-5 και B-6, αναφέρονται στη διαχείριση των ιζημάτων και των καθηκόντων του αξιωματικού και του πληρώματος του πλοίου, αντίστοιχα. Το

προσωπικό του πλοίου πρέπει να είναι ενημερωμένο για το σχέδιο διαχείρισης έρματος που επικρατεί στο πλοίο ^[8].

Ενότητα C – Ειδικές Απαιτήσεις σε Ορισμένες περιοχές

Σύμφωνα με την ενότητα C, τα Συμβαλλόμενα μέλη μπορούν να ορίσουν πρόσθετα μέτρα και ειδικές απαιτήσεις, που πρέπει να εκπληρώνονται από τα πλοία για την απόρριψη έρματος στις περιοχές τους. Η έκδοση των επιπλέον μέτρων γίνεται σε συμφωνία με το Διεθνές Δίκαιο και ακολουθώντας τις κατευθυντήριες οδηγίες του Διεθνή Ναυτιλιακού Οργανισμού.

Ακόμα, για την πρόληψη ή μείωση της μεταφοράς υδρόβιων ειδών και παθογόνων, είναι δυνατό τα Συμβαλλόμενα κράτη να ορίσουν συγκεκριμένες περιοχές που επιτρέπεται η πρόσληψη ή απόρριψη έρματος. Οι συντεταγμένες των περιοχών αυτών πρέπει να γνωστοποιούνται στον Διεθνή Ναυτιλιακό Οργανισμό, αλλά και στις ναυτιλιακές εταιρίες. Η υιοθέτηση των επιπλέον μέτρων δεν πρέπει σε καμία περίπτωση να θέτει σε κίνδυνο την ασφάλεια του πλοίου ^[8].

Ενότητα D–Πρότυπα για τη Διαχείριση του Θαλάσσιου Έρματος

Κανονισμός D-1: Πρότυπο ανταλλαγής θαλάσσιου έρματος

Ο κανονισμός D-1 αφορά το πρότυπο ανταλλαγής έρματος. Ως αποτελεσματική θεωρείται η ανταλλαγή έρματος όταν αυτή ισούται με το 95% της ογκομετρικής ανταλλαγής του έρματος. Για πλοία που ανταλλάσσουν έρμα με τον κύκλο ερματισμού – αφερματισμού, θεωρείται πως η ανταλλαγή είναι επιτυχής όταν γίνεται αντικατάσταση του τριπλάσιου όγκου της κάθε δεξαμενής έρματος. Η ανταλλαγή μικρότερης ποσότητας νερού μπορεί να γίνει αποδεκτή όταν το πλοίο μπορεί να δείξει ότι επιτυγχάνεται το 95% της ογκομετρικής ανταλλαγής ^[8].

Κανονισμός D-2: Απαιτούμενο Πρότυπο Απόδοσης Θαλάσσιου Έρματος

Τα πλοία που πραγματοποιούν διαχείριση Θαλάσσιου Έρματος σύμφωνα με τη Σύμβαση, πρέπει να κάνουν απόρριψη ^[8]:

- Λιγότερους από 10 επιζώντες οργανισμούς ανά κυβικό μέτρο, των οποίων η ελάχιστη διάμετρος είναι μεγαλύτερη ή ίση με 50 μm
- Λιγότερο από 10 επιζώντες οργανισμούς ανά mL των οποίων η ελάχιστη διάμετρος είναι μικρότερη από 50 μm και μεγαλύτερη ή ίση από 10 μm

Η απόρριψη μικροβιακών δεικτών δεν πρέπει να υπερβαίνει τις ακόλουθες συγκεντρώσεις:

- Τοξικογενή *Vibriocholerae* (O1 και O139) με λιγότερο από 100cfu/ 100 mL ή λιγότερο από 1cfu/ g δειγμάτων ζωοπλαγκτόν
- *Escherichia coli* λιγότερο από 250 cfu/ 100 mL
- Εντερόκοκκοι (*Enterococcus*) λιγότερο από 100 cfu/ 100 mL

Group of organisms	Counts per volume
$\geq 50 \mu\text{m}$	<10 per m^3
$\geq 10 \mu\text{m} < 50 \mu\text{m}$	<10 per mL
<i>Vibrio cholerae</i> (O1 and O139)	<1 cfu per 100 mL or <1 cfu per 1 g (wet weight) zooplankton samples
<i>Escherichia coli</i>	<250 cfu per 100 mL
Intestinal Enterococci	<100 cfu per 100 mL

Εικόνα 13. Απαιτούμενο Πρότυπο Απόδοσης Θαλάσσιου Έρματος D-2^[7]

Κανονισμός D-3: Απαιτήσεις έγκρισης για συστήματα Διαχείρισης Έρματος

Σύμφωνα με τον κανονισμό D-3, τα συστήματα για την διαχείριση του θαλάσσιου έρματος πρέπει να εγκρίνονται από την Αρχή με γνώμονα τις κατευθυντήριες οδηγίες που έχουν αναπτυχθεί από τον Οργανισμό. Τα συστήματα επεξεργασίας που βασίζονται σε δραστικές ουσίες ή στα παρασκευάσματα αυτών πρέπει να εγκρίνονται από τον Οργανισμό. Όλα τα συστήματα που χρησιμοποιούνται για τη διαχείριση θαλάσσιου έρματος, είναι απαραίτητο να είναι ασφαλή για το πλοίο, το πλήρωμά του και τον εξοπλισμό του ^[8].

Κανονισμός D-4: Πρωτότυπες τεχνολογίες επεξεργασίας έρματος

Ο κανονισμός D-4 επιτρέπει στα πλοία που συμμετέχουν σε εγκεκριμένο πρόγραμμα να δοκιμάσουν και να αξιολογήσουν νέες τεχνολογίες επεξεργασίας του θαλάσσιου έρματος, που μπορούν να επιτύχουν αυστηρότερες/χαμηλότερες συγκεντρώσεις από αυτές που δίνονται στο κανονισμό D-2. Πλοία που συμμετέχουν σε αυτό το πρόγραμμα μετά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της σύμβασης, έχουν περιθώριο πέντε ετών ώστε να συμμορφωθούν με τις απαιτήσεις αυτής. Η δοκιμή και αξιολόγηση των νέων τεχνολογιών γίνεται σύμφωνα με τον τρόπο που έχει σχεδιαστεί ένα σύστημα και λαμβάνοντας υπόψη τις κατευθυντήριες οδηγίες του IMO ^[8].

Κανονισμός D-5: Αναθεώρηση των προτύπων από τον IMO

Σύμφωνα με τον κανονισμό D-5, ο IMO πρέπει να επανεξετάζει το πρότυπο απόδοσης του θαλάσσιου έρματος, λαμβάνοντας υπόψη τη διαθεσιμότητα τεχνολογιών που φέρουν το αποτέλεσμα του κανονισμού D-2. Επιπλέον ο Οργανισμός θα πραγματοποιεί επιθεωρήσεις λαμβάνοντας υπόψη κατευθυντήριες οδηγίες και κριτήρια, όπως:

- Θέματα ασφάλειας για το πλοίο και το πλήρωμα
- Την περιβαλλοντική αποδοχή, δηλαδή να μην προκαλεί περισσότερες περιβαλλοντικές επιπτώσεις από αυτές που επιλύει
- Να είναι συμβατό με το σχεδιασμό και τις λειτουργίες του πλοίου
- Να είναι εύκολο στην εγκατάσταση και τη λειτουργία του συστήματος
- Την σχέση αποτελεσματικότητας και του κόστους
- Την βιολογική αποτελεσματικότητα όσον αφορά την απομάκρυνση ή την μείωση των επιβλαβών υδρόβιων οργανισμών και παθογόνων στο νερό έρματος

Ένα ακόμα σημαντικό κριτήριο για τα συστήματα που κάνουν χρήση ενεργών ουσιών είναι ο χειρισμός αυτών από το πλήρωμα, η αποθήκευση αυτών στο πλοίο και η διαθεσιμότητα τους σε λιμάνια για εφοδιασμό.

Ενότητα Ε- Απαιτήσεις Επιθεώρησης και Πιστοποίησης για Διαχείριση Έρματος

Σύμφωνα με την ενότητα Ε, τα πλοία επιθεωρούνται ώστε να επαληθευτεί ότι το σχέδιο διαχείρισης έρματος, καθώς και όλα τα συστήματα και ο εξοπλισμός, έχουν πλήρη συμμόρφωση προς τις απαιτήσεις που ορίζονται από την σύμβαση. Τα πλοία που περνούν επιτυχώς την επιθεώρηση λαμβάνουν Πιστοποιητικό Διαχείρισης Θαλάσσιου Έρματος (International Ballast Water Management Certificate, IBWMC). Τα πιστοποιητικά μπορούν να εκδοθούν είτε από την Αρχή που ανήκει το πλοίο, είτε από κάποιο άλλο συμβαλλόμενο κράτος – και γίνονται αποδεκτά από όλα τα κράτη-μέλη που έχουν συνυπογράψει τη σύμβαση ^[8].

Το πιστοποιητικό έχει ισχύ 5 έτη, ενώ δίνεται η δυνατότητα διενέργειας ενδιάμεσων επιθεωρήσεων σε χρονικό διάστημα που ορίζει η Αρχή. Οι επιθεωρήσεις που διενεργούνται έχουν στόχο τον έλεγχο των συστημάτων και του εξοπλισμού που χρησιμοποιούνται για τη διαχείριση του θαλάσσιου έρματος. Μπορεί να είναι ετήσιες επιθεωρήσεις ή επιθεωρήσεις μετά από 2 ή 3 έτη από την αρχική επιθεώρηση. Λίγο πριν το διάστημα των 5 ετών διενεργείται επιθεώρηση για την ανανέωση του πιστοποιητικού. Σε περίπτωση που γίνει κάποια αλλαγή ή συντήρηση στον εξοπλισμό του συστήματος, διενεργείται νέα επιθεώρηση. Αν διαπιστωθεί κάποια μη συμμόρφωση, λαμβάνονται άμεσα διορθωτικές ενέργειες. Το πιστοποιητικό παρέχει στοιχεία όπως το όνομα του πλοίου, η ημερομηνία ναυπήγησης, η ολική χωρητικότητα και χωρητικότητα θαλάσσιου έρματος, καθώς και τον αριθμό αναγνώρισης του πλοίου από τον ΙΜΟ. Επίσης, αναγράφονται το υφιστάμενο σύστημα επεξεργασίας έρματος, η ημερομηνία εγκατάστασης του και η επωνυμία του κατασκευαστή ^[8].

2.2. Διαχείριση θαλάσσιου έρματος στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής

Σύμφωνα με την ενότητα C της Διεθνούς Σύμβασης του ΙΜΟ, τα συμβαλλόμενα μέλη μπορούν να ορίσουν επιπλέον μέτρα και να θέσουν απαιτήσεις για τη διαχείριση του έρματος στις περιοχές δικαιοδοσίας τους. Έτσι, οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής έχουν ορίσει τα δικά τους μέτρα που αφορούν το θαλάσσιο έρμα, τα οποία απορρέουν από τους κανονισμούς της ακτοφυλακής των Η.Π.Α. (United States Coast Guard, USCG), του Οργανισμού Προστασίας Περιβάλλοντος των Η.Π.Α. (United States Environmental Protection Agency, US-EPA) και των νομικών μέτρων της εκάστοτε πολιτείας. Η Ακτοφυλακή των Η.Π.Α. αναφέρει ότι τα πλοία που δραστηριοποιούνται εκτός της ΑΟΖ τους (Exclusive Economic Zone, EEZ) και πρόκειται να εισέλθουν σε λιμένες των ΗΠΑ, πρέπει να εκτελούν ανταλλαγή ή επεξεργασία του θαλάσσιου έρματος, καθώς και να διαχειρίζονται τα ιζήματα τους. Οι κανονισμοί αυτοί τέθηκαν σε ισχύ το 2012, ενώ βάση αυτών καθορίστηκε ειδικό χρονοδιάγραμμα, το οποίο ορίζει τότε τα πλοία πρέπει να εξοπλιστούν με ένα σύστημα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος. Σύμφωνα με το χρονοδιάγραμμα αυτό ^[14, 15].

- πλοία που κατασκευάζονται κατά ή μετά την 1^η Δεκεμβρίου 2013, πρέπει να είναι εξοπλισμένα με ένα σύστημα επεξεργασίας έρματος κατά την παράδοση τους
- πλοία που κατασκευάστηκαν πριν την 1^η Δεκεμβρίου 2013, με χωρητικότητα θαλασσιού έρματος κάτω των 1.500 m³, πρέπει να εξοπλιστούν με ένα σύστημα επεξεργασίας έρματος κατά τον πρώτο προγραμματισμένο δεξαμενισμό (dry docking) μετά την 1^η Ιανουαρίου 2016
- πλοία που κατασκευάστηκαν πριν την 1^η Δεκεμβρίου 2013, με χωρητικότητα θαλασσιού έρματος από 1.500 έως 5.000 m³, πρέπει να εγκαταστήσουν σύστημα επεξεργασίας έρματος κατά τον πρώτο προγραμματισμένο δεξαμενισμό (dry docking) μετά την 1^η Ιανουαρίου 2014
- πλοία που κατασκευάστηκαν πριν την 1^η Δεκεμβρίου 2013, με ολική χωρητικότητα άνω των 5.000 m³, πρέπει να εγκαταστήσουν σύστημα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος κατά τον πρώτο προγραμματισμένο δεξαμενισμό (dry docking) μετά την 1^η Ιανουαρίου 2016

Η ανταλλαγή έρματος θα επιτρέπεται μόνο μέχρι τις ημερομηνίες που αναφέρονται παραπάνω. Επιπλέον, η νομοθεσία των Η.Π.Α. απαιτεί τα συστήματα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος να λαμβάνουν έγκριση από την ακτοφυλακή των Η.Π.Α. (USCG). Αν όμως οι κανονισμοί που απαιτεί η USCG δεν είναι δυνατό να υλοποιηθούν για κάποιο λόγο, οι πλοιοκτήτες είναι δυνατό να ζητήσουν παράταση όσον αφορά το χρονοδιάγραμμα. Κατά το χρονικό διάστημα μέχρι τη συμμόρφωση με τις απαιτήσεις της USCG, τα πλοία μπορούν να χρησιμοποιούν τα υφιστάμενα συστήματα, τα οποία χαρακτηρίζονται από την ακτοφυλακή ως εναλλακτικά συστήματα διαχείρισης (Alternate Management Systems, AMS). Μια άλλη επιλογή συμμόρφωσης με τους κανονισμούς είναι είτε η χρήση πόσιμου νερού από το δημόσιο σύστημα υδάτων των Η.Π.Α., είτε η απόρριψη έρματος σε εγκαταστάσεις υποδοχής στα λιμάνια. Σε περίπτωση χρήσης πόσιμου νερού, απαιτείται προηγουμένως επιπλέον απομάκρυνση των ιζημάτων και καθαρισμός των δεξαμενών. Τέλος, το πρότυπο απόδοσης θαλάσσιου έρματος που αφορά την απόρριψη μικροβιολογικών παραγόντων, διαφοροποιήθηκε από αυτό του IMO και ολοκληρώθηκε σε δύο φάσεις, σύμφωνα με την Εικόνα 14 ^[14, 15].

Organism size class	USCG Phase 1	USCG Phase 2	IMO D2 Standards
Organisms $\geq 50 \mu\text{m}$ in min, dimension	<10 cells/m ³	0.01 cells/m ³	<10 cells/m ³
Organisms 10-50 μm in min, dimension	<10 cells/m ³	0.01 cells/mL	<10 cells/mL
Bacteria	No limit	10/mL	-
Viruses	No limit	100/mL	-
Escherichia Coli	<250cfu/100mL	-	<250cfu/100mL
Intestinal enterococci	<100cfu/100mL	-	<100cfu/100mL
Toxicogenic Vibrio cholerae	<1cfu/100mL	-	<1cfu/100mL or zoological samples

Εικόνα 14. Πρότυπο Απόδοσης Θαλάσσιου Έρματος της USCG σε σύγκριση με το πρότυπο IMO^[14].

2.3. Οδηγίες και ρυθμίσεις για το θαλάσσιο έρμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση

Οι υπολογίσιμες επιπτώσεις από την βιο-εισβολή ξένων ειδών στις περιοχές τους έχουν γίνει αντιληπτές από αρκετά κράτη της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Έτσι, αναπτύχθηκαν συνεργασίες για την μείωση ή αντιμετώπιση αυτών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί πρόγραμμα συνεργασίας των χωρών της Βαλτικής θάλασσας, με τη συνδρομή του προγράμματος σύμπραξης GloBallast. Στόχος του προγράμματος αυτού είναι η προστασία της βαλτικής θάλασσας από την εισαγωγή ξένων ειδών, ο σχεδιασμός και η χρηματοδότηση των κρατών της Βαλτικής για τη διαχείριση του θαλάσσιου έρματος και η ενίσχυση των περιφερειακών συνεργασιών ^[4].

Το 2002, δημιουργήθηκε ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την Ασφάλεια στη Θάλασσα (European Maritime Safety Agency, EMSA), ο οποίος ανέλαβε τον κύριο ρόλο για τα ναυτιλιακά ζητήματα της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Ο EMSA αποτελεί ένα κρίκο συνεργασίας μεταξύ των κρατών της Ευρώπης, καθώς και μεταξύ της Ευρώπης και των υπόλοιπων ηπείρων, για την ασφάλεια στις θάλασσες. Ο Οργανισμός αυτός υποστηρίζει το έργο του IMO και βοηθά τα κράτη-μέλη της Ένωσης, παρέχοντας πληροφορίες για θέματα που αφορούν την ασφάλεια της ναυσιπλοΐας και την πρόληψη της ρύπανσης των θαλασσών. Επιπλέον, ο EMSA βοηθάει τα κράτη της Ευρωπαϊκής Ένωσης να εφαρμόσουν τη διεθνή σύμβαση για τη διαχείριση του θαλάσσιου έρματος, παρέχοντας οδηγίες και διοργανώνοντας εκπαιδευτικές συναντήσεις για τον τρόπο δειγματοληψίας έρματος, την εκτίμηση κινδύνου και τον τρόπο έγκρισης των συστημάτων επεξεργασίας έρματος ^[16].

Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή ανακοίνωσε το 2008 την στρατηγική της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τα χωροκατακτητικά είδη (sec.(2008) 2887 & sec.(2008) 2886), στην οποία αναφέρεται ότι το θαλάσσιο έρμα αποτελεί μέσο μεταφοράς και εισαγωγής ξένων ειδών σε ένα οικοσύστημα ^[17]. Η Ευρωπαϊκή Ένωση, με τον κανονισμό 1143/2014 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου για την πρόληψη και τη διαχείριση της εισαγωγής και της εξάπλωσης ξενικών ειδών, αναφέρει ότι τα “χωροκατακτητικά ξένα είδη, είναι ξένα είδη, συμπεριλαμβανομένων ζώων, φυτών, μυκήτων και μικροοργανισμών, που εισάγονται εκούσια ή ακούσια σε ένα φυσικό περιβάλλον όπου συνήθως δεν απαντώνται υπό φυσιολογικές συνθήκες και των οποίων η εισαγωγή ή εξάπλωση έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει αρνητικά τη βιοποικιλότητα και τις σχετικές οικοσυστημικές υπηρεσίες” ^[18]. Ο Κανονισμός αυτός τέθηκε σε ισχύ από την 1η Ιανουαρίου 2015 και έχει ως στόχο να αντιμετωπίσει με ολοκληρωμένο τρόπο το ζήτημα των χωροκατακτητικών ξενικών ειδών στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Η ενωπιωμένη διαχείριση για την εφαρμογή μέτρων και ελέγχου των μέσων εισαγωγής ξένων ειδών, στοχεύουν στην αποτροπή ή μείωση εισαγωγής ξένων ειδών. Ο κανονισμός τονίζει ότι ο έλεγχος του θαλάσσιου έρματος αποτελεί σημαντική παράμετρο και προτρέπει τα κράτη-μέλη να κυρώσουν τη Διεθνή Σύμβαση του IMO και να υιοθετήσουν τις κατευθυντήριες οδηγίες του, καθώς είναι ένα αποτελεσματικό μέτρο για την πρόληψη ή μείωση των εισαγόμενων ειδών ^[18].

2.3.1. Η θέση της Ελλάδας στην διαχείριση του θαλάσσιου έρματος

Η Ελλάδα αποτελεί ένα από τα ιδρυτικά μέλη του Διεθνούς Ναυτιλιακού Οργανισμού, συμμετέχοντας ενεργά από το 1958. Παράλληλα, η Ελλάδα μαζί με άλλες 9 χώρες, συγκαταλέγεται στην κατηγορία Α του Οργανισμού. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι χώρες που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον για την παροχή διεθνών ναυτιλιακών υπηρεσιών. Ο Ελληνικός εμπορικός στόλος κατέχει την πρώτη θέση για τον αριθμό πλοιοκτησίας του, υπό εθνική ή ξένη σημαία και μαζί με την Ιαπωνία, τις Η.Π.Α., την Κίνα και την Νορβηγία αντιπροσωπεύουν το 45% των πλοιοκτητών της παγκόσμιας ναυτιλίας. Ο αριθμός των ελληνόκτητων πλοίων, ανέρχεται στο σύνολό του σε 4.536 πλοία, με τα 670 να πλέουν υπό την εθνική σημαία και τα 3.866 υπό ξένη σημαία. Από το σύνολο των ελληνόκτητων πλοίων, το ποσοστό αυτών που έχουν εγκατεστημένο κάποιο σύστημα για τη διαχείριση του θαλάσσιου έρματος, ανέρχεται στο 17.07%, καταλαμβάνοντας την 9^η θέση παγκοσμίως ^[8, 19].

Η Ελλάδα κύρωσε τη Διεθνή Σύμβαση του IMO για τον έλεγχο και τη διαχείριση του θαλάσσιου έρματος και των ιζημάτων του με τον νόμο υπ' αριθ. 4470, που δημοσιεύθηκε στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως με αριθμό φύλλου 65, στις 8 Μαΐου 2017 ^[20]. Σύμφωνα με το νόμο αυτό, το πεδίο εφαρμογής της σύμβασης αφορά πλοία με ελληνική σημαία και πλοία που πλέουν σε ελληνικά ύδατα. Εξαιρέση σύμφωνα με το άρθρο 3 της Διεθνούς σύμβασης αποτελούν πλοία που δεν έχουν σχεδιαστεί ή κατασκευαστεί για να μεταφέρουν έρμα και πλοία που φέρουν μόνιμο έρμα σε σφραγισμένες δεξαμενές το οποίο δεν απορρίπτεται. Ακόμα εξαιρούνται, εκτός αν κριθεί αναγκαίο για λόγους θαλάσσιας προστασίας:

- πλοία υπό ελληνική σημαία
 - που δραστηριοποιούνται σε εθνικά ύδατα,
 - που δραστηριοποιούνται σε ύδατα Συμβαλλόμενου κράτους,
 - που δραστηριοποιούνται μεταξύ ενός Συμβαλλόμενου κράτους και στην ανοιχτή θάλασσα
- πλοία υπό ξένη σημαία Συμβαλλόμενου κράτους
 - που δραστηριοποιούνται σε ελληνικά ύδατα
 - που δραστηριοποιούνται μεταξύ ελληνικών υδάτων και στην ανοιχτή θάλασσα

Σύμφωνα με το άρθρο 12 του νόμου 4470, σε περίπτωση που διαπιστωθεί παράβαση ως προς τη συμμόρφωση στη Σύμβαση, επιβάλλεται στους παραβάτες πρόστιμο ύψους 60.000 €, ποσό το οποίο θα αποτελεί έσοδο του Δημοσίου. Επιπλέον, λαμβάνονται μέτρα ελέγχου και συμμόρφωσης για την αντιμετώπιση των παραβάσεων και μπορεί να απαγορευτεί ο κατάπλους ή απόπλους του πλοίου. Ακόμη, είναι δυνατό να απαγορευτεί ο απόπλους του πλοίου μέχρι την καταβολή του προστίμου ^[20].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Μέθοδοι Διαχείρισης Θαλάσσιου Έρματος

3.1. Μέθοδοι ανταλλαγής θαλάσσιου έρματος

Η ανταλλαγή θαλάσσιου έρματος γίνεται σύμφωνα με το πρότυπο του κανονισμού D-1 και τις αποστάσεις που ορίζονται από τον κανονισμό B-4. Η ανταλλαγή έρματος εν μέσω του ωκεανού αποτελεί αποτελεσματική μέθοδο μείωσης της εισαγωγής ξένων ειδών και παθογόνων σε ένα περιβάλλον, καθότι οι οργανισμοί που διαβιούν σε παράκτιες περιοχές είναι δύσκολο να επιβιώσουν στην ανοιχτή θάλασσα και το αντίστροφο. Σύμφωνα με την οδηγία G6 (Guidelines For Ballast Water Exchange), με αρχική έκδοση το 2005 (MEPC.124 (53)) και την αναθεωρημένη το 2017 (MEPC.288 (71)), υπάρχουν τρεις τρόποι για την ανταλλαγή θαλάσσιου έρματος που αξιολογήθηκαν και εγκρίθηκαν από τον IMO. Αυτές είναι η διαδοχική μέθοδος (sequential method), η μέθοδος ροής (flow-through method) και η μέθοδος αραίωσης (dilution method) ^[8].

- Διαδοχική μέθοδος: Είναι η διαδικασία κατά την οποία μία δεξαμενή θαλάσσιου έρματος εκκενώνεται και στη συνέχεια αναπληρώνεται ώστε να επιτευχθεί ογκομετρική ανταλλαγή τουλάχιστον της τάξης του 95%
- Μέθοδος ροής: Το θαλάσσιο έρμα αντλείται σε δεξαμενή έρματος, επιτρέποντας τη ροή του νερού μέσω υπερχειλίσης
- Μέθοδος αραίωσης: Στη μέθοδο αυτή, η εκκένωση και η πλήρωση της δεξαμενής με νέο έρμα γίνεται ταυτόχρονα, διατηρώντας σταθερή τη στάθμη, μέσω συνεχούς ροής

Μειονέκτημα των μεθόδων ανταλλαγής αποτελεί το γεγονός ότι δεν απομακρύνονται πλήρως τα ιζήματα και οι μικροοργανισμοί που έχουν προσκολληθεί στις δεξαμενές ή στις σωληνώσεις του συστήματος. Επίσης, η ανταλλαγή έρματος αποτελεί ένα δυνητικά επικίνδυνο γεγονός για την ασφάλεια του πλοίου και του πληρώματος: όταν ένα πλοίο, πλέει σε ανοιχτή θάλασσα, βρίσκεται υπό την επήρεια ισχυρότερων δυνάμεων σε σχέση με αυτές που δέχεται όταν βρίσκεται σε ένα λιμάνι. Οι διαδικασίες ανταλλαγής έρματος, επηρεάζουν άμεσα την κλίση του πλοίου, καθώς και τη δομική του ακεραιότητα, σε σημείο που μπορεί να προκληθεί ρήξη ή ανατροπή του πλοίου. Η υπέρβαση των δυνάμεων πίεσης και ροπής που δέχεται το πλοίο και η υπερπίεση των δεξαμενών ή αντλιών που λαμβάνουν χώρα κατά τη διαδοχική μέθοδο και τη μέθοδο ροής αντίστοιχα, αυξάνουν τον κίνδυνο πρόκλησης βλάβης στο πλοίο. Η επιλογή και εκτέλεση των μεθόδων ανταλλαγής έρματος γίνεται βάσει συγκεκριμένων κριτηρίων, όπως τα περιθώρια ασφάλειας και σταθερότητας ενός πλοίου κάτω από επιτρεπτές καιρικές συνθήκες, το σύστημα αντλιών και σωληνώσεων που χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά έρματος, καθώς και τη χωρητικότητα των δεξαμενών και τα σημεία υπερπίεσης αυτών. Επιπλέον, απαιτείται το πλήρωμα του πλοίου να είναι εξοικειωμένο με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται ^[8, 21].

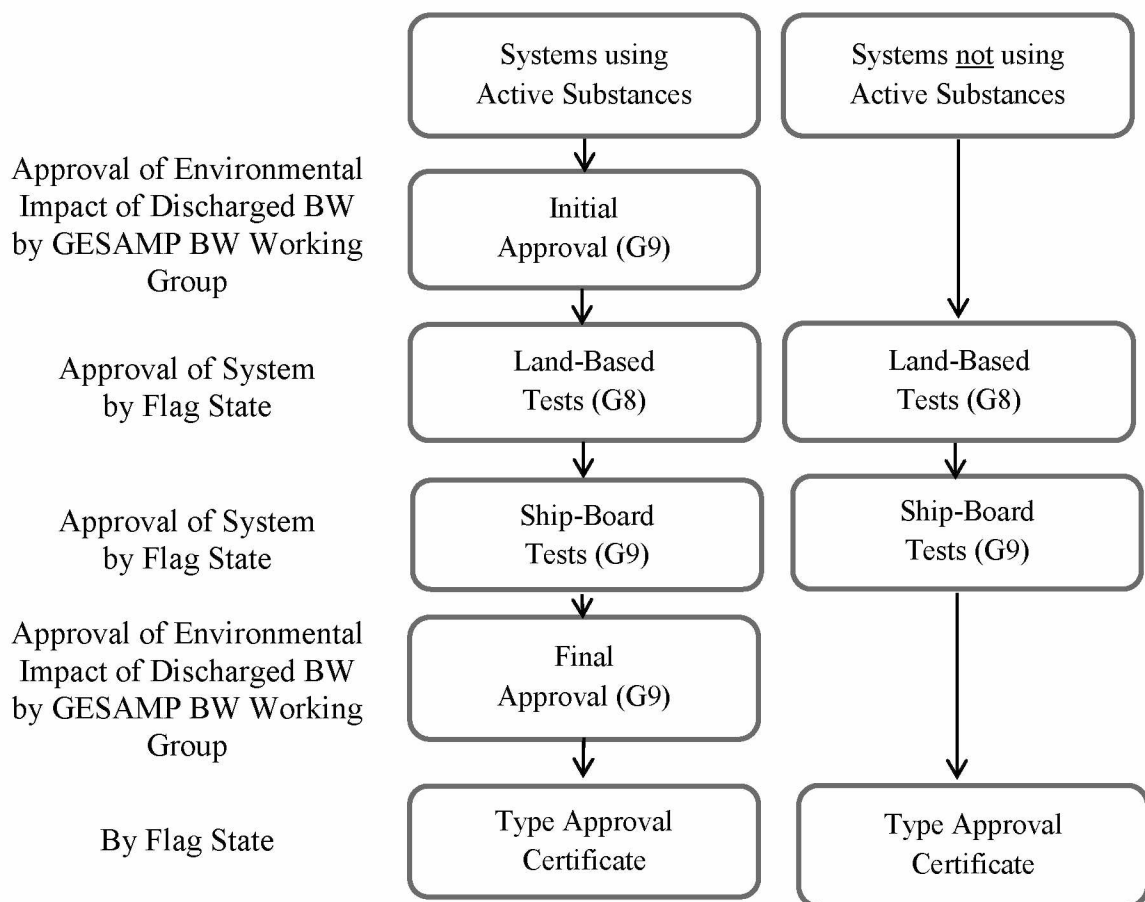
3.2. Μέθοδοι επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος

Η επεξεργασία του θαλάσσιου έρματος μπορεί να γίνει είτε σε εγκαταστάσεις υποδοχής που βρίσκονται σε λιμάνια (port-based facilities), είτε μέσω συστημάτων που είναι εγκατεστημένα στο πλοίο (ship-based facilities). Η απόρριψη του έρματος σε εγκαταστάσεις σε λιμένες αποτελεί ένα μέτρο για την πρόληψη της εισαγωγής νέων ειδών σε ένα περιβάλλον. Προϋπόθεση για τις εγκαταστάσεις αυτές αποτελεί να έχουν σχεδιαστεί και να λειτουργούν σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες G5 του Οργανισμού, ώστε να μπορούν να δέχονται και να διαχειρίζονται το θαλάσσιο έρμα χωρίς να προκύπτουν κίνδυνοι για το περιβάλλον, την οικονομία και την ανθρώπινη υγεία. Πλοία που πραγματοποιούν αφερματισμό μόνο σε αυτές τις εγκαταστάσεις εξαιρούνται από το χρονοδιάγραμμα του κανονισμού B-3. Η επιλογή των συστημάτων επεξεργασίας έρματος που είναι εγκατεστημένα σε πλοία (ship-based facilities) γίνεται με βάση τα κριτήρια του κανονισμού D-5, την ολική χωρητικότητα έρματος που δέχεται το πλοίο, την ικανότητα ενός συστήματος να επεξεργάζεται την ολική χωρητικότητα έρματος, καθώς και την ηλικία του πλοίου. Ο σχεδιασμός και η αξιολόγηση των συστημάτων γίνεται σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του IMO ^[8].

Όλα τα συστήματα επεξεργασίας έρματος ενός πλοίου πρέπει να ακολουθούν τις κατευθυντήριες οδηγίες G8 του Οργανισμού. Οι οδηγίες αυτές, βοηθούν την Αρχή στην οποία ανήκει το πλοίο να εκτιμήσει κατά πόσο τα συστήματα επεξεργασίας μπορούν να επιτύχουν το πρότυπο του κανονισμού D-2. Ακόμα, οι οδηγίες αυτές περιλαμβάνουν γενικές απαιτήσεις που βοηθούν στον σχεδιασμό, στην κατασκευή, στις διαδικασίες έκδοσης του πιστοποιητικού έγκρισης τύπου του συστήματος διαχείρισης έρματος και υποβολής εκθέσεων στον IMO, καθώς και ειδικές απαιτήσεις για τη διαδικασία αξιολόγησης των συστημάτων. Οι διαδικασίες για την αξιολόγηση της απόδοσης και καταλληλότητας ενός συστήματος και η έκδοση έγκρισης από την Αρχή, περιλαμβάνει ένα πρόγραμμα δοκιμών της λειτουργίας του συστήματος. Αρχικά ακολουθείται ένας κύκλος δοκιμών του συστήματος στην ξηρά, σε διάφορες συνθήκες θερμοκρασίας και αλατότητας και έπειτα ένας κύκλος δοκιμών λειτουργίας στο πλοίο. Τα συστήματα που ολοκληρώνουν επιτυχώς τους κύκλους δοκιμής, λαμβάνουν πιστοποιητικό βασικής έγκρισης (basic approval) ^[3].

Όσον αφορά τα συστήματα επεξεργασίας που χρησιμοποιούν δραστικές ουσίες, εκτός από τις οδηγίες G8, πρέπει να ακολουθούν και τις οδηγίες G9 του IMO, προκειμένου να λάβουν πιστοποιητικό τελικής έγκρισης (final approval), έτσι ώστε να προσδιοριστεί η καταλληλότητα των δραστικών ουσιών σε σχέση με την ασφάλεια των πλοίων, την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Ένα σύστημα που χρησιμοποιεί δραστικές ουσίες, για να λάβει έγκριση, πρέπει να παρέχει δεδομένα που αφορούν στα παρακάτω ^[8]:

- τις επιπτώσεις των ουσιών σε υδρόβια φυτά, ασπόνδυλα, ψάρια και άλλα είδη, συμπεριλαμβανομένων ευαίσθητων και αντιπροσωπευτικών οργανισμών
- την τοξικότητα των ουσιών στα θηλαστικά
- την περιβαλλοντική πορεία και επίδραση των ουσιών υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες
- τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ουσιών ή των παραγώγων τους
- αναλυτικές μεθόδους για τον προσδιορισμό των ουσιών σε περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις



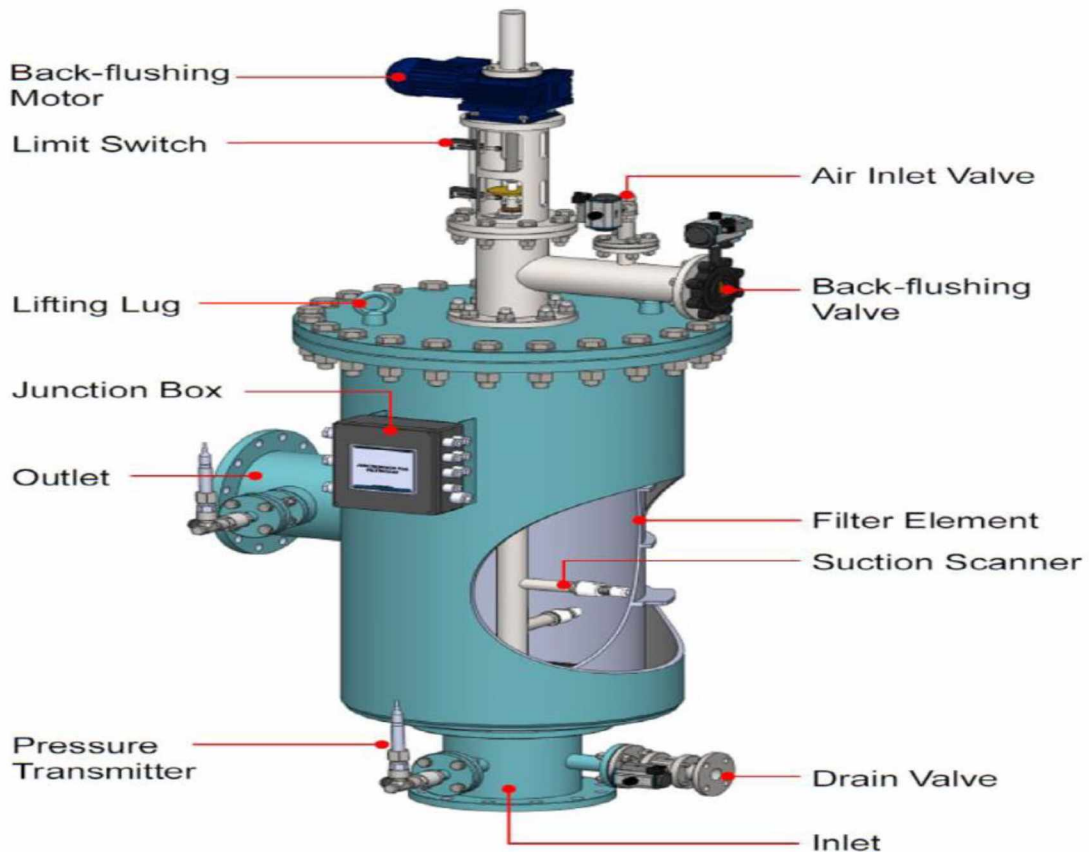
Εικόνα 15. Διαδικασία έγκρισης συστημάτων επεξεργασίας έρματος^[19]

Σύμφωνα με την UNCTAD, υπάρχουν συνολικά 95.295 πλοία που μεταφέρουν θαλάσσιο έρμα, από τα οποία το 7,66% έχουν εγκατεστημένο κάποιο σύστημα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος^[19]. Στο ποσοστό αυτό περιλαμβάνονται συστήματα επεξεργασίας που έχουν λάβει είτε την βασική είτε την τελική έγκριση. Τα συστήματα αυτά διακρίνονται σε δύο κατηγορίες τεχνολογιών επεξεργασίας – ενώ δύναται να συνδυαστούν δύο ή περισσότερες τεχνολογίες με στόχο την επίτευξη των συγκεντρώσεων του απαιτούμενου προτύπου (Κανονισμός D-2). Στην πρώτη κατηγορία ανήκει η πρωτοβάθμια επεξεργασία, ενώ στη δεύτερη οι τεχνολογίες δευτεροβάθμιας επεξεργασίας. Η πρωτοβάθμια επεξεργασία χρησιμοποιεί μηχανικές διαδικασίες που αποσκοπούν στον διαχωρισμό και την απομάκρυνση των περισσότερων σωματιδίων κατά τη διαδικασία του ερματισμού. Στις μηχανικές μεθόδους συγκαταλέγονται η διήθηση, ο υδροκυκλώνας και ο ηλεκτρομηχανικός διαχωρισμός μετά από πήξη ή κροκίδωση. Η δευτεροβάθμια επεξεργασία έχει ως στόχο την απολύμανση του νερού, δηλαδή την μείωση ή/και την καταστροφή των οργανισμών και παθογόνων που βρίσκονται στο θαλάσσιο έρμα. Οι μηχανισμοί που χρησιμοποιούνται μπορούν να διαχωριστούν σε φυσικές και χημικές μεθόδους. Ως μέθοδοι φυσικής επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος που οδηγούν στη καταστροφή των οργανισμών και παθογόνων – είτε δρώντας στους οργανισμούς, είτε μεταβάλλοντας τις φυσικές ιδιότητες του νερού – είναι η θερμική επεξεργασία, η χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV), η αποξυγόνωση και η μέθοδος της σπηλαίωσης. Στις χημικές τεχνολογίες ανήκουν οι μέθοδοι απολύμανσης με χρήση χημικών ουσιών. Όλες αυτές οι τεχνολογίες, μπορούν να εφαρμοστούν είτε μεμονωμένα είτε συνδυαστικά σε διάφορα στάδια, όπως κατά τον ερματισμό, κατά τη διάρκεια του ταξιδιού ή κατά τον αφερματισμό^[2, 7, 22, 23].

3.2.1. Πρωτοβάθμια επεξεργασία – Μηχανική επεξεργασία

Διήθηση

Η μέθοδος της διήθησης με χρήση φίλτρων είναι μια διαδικασία που επιτρέπει την κατακράτηση οργανισμών μεγέθους $>50\mu\text{m}$, μειώνοντας κατά ένα μέρος τον πληθυσμό των υδρόβιων ειδών που αποθηκεύονται στις δεξαμενές. Τα περισσότερα φίλτρα που χρησιμοποιούνται είναι εξοπλισμένα με ένα σύστημα αυτόματου καθαρισμού (automatic backwash mechanisms), που επιτρέπει τη συνεχόμενη λειτουργία και ταυτόχρονα επιστρέφει όλα τα κατακρατούμενα στοιχεία στην περιοχή που τελείται ο ερματισμός, μειώνοντας σε ένα ποσοστό την πιθανότητα εισαγωγής ξένων ειδών σε ένα άλλο οικοσύστημα. Η μέθοδος της διήθησης θεωρείται μια πρωτοβάθμια επεξεργασία του έρματος και από μόνη της δεν μπορεί να φέρει τα αποτελέσματα που απαιτούνται από τον Κανονισμό D-2. Για το λόγο αυτό συνδυάζεται με κάποια δευτεροβάθμια επεξεργασία, όπως είναι για παράδειγμα το σύστημα GloEn-Patrol της Panasia, που συνδυάζει τη διήθηση με την UV ακτινοβολία [2, 4, 24].

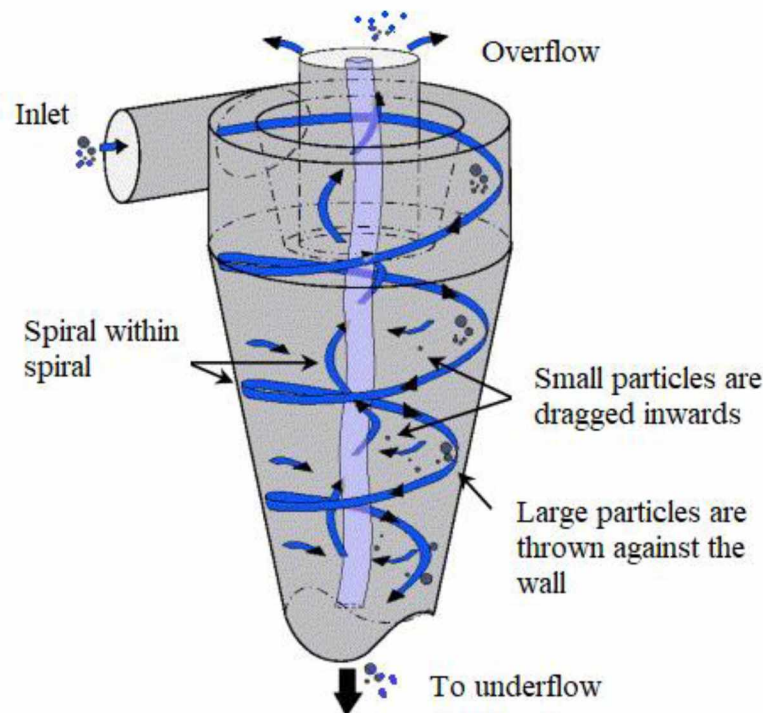


Εικόνα 16. Μονάδα διήθησης του συστήματος GloEn-Patrol [24]

Υδροκυκλώνας

Ο μηχανισμός του υδροκυκλώνα – ή αλλιώς φυγοκέντρωση – είναι μια διαδικασία που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό σωματιδίων σε διάφορους κλάδους, όπως είναι η μεταλλουργία, η επεξεργασία λυμάτων και η επεξεργασία έρματος. Η μέθοδος του

υδροκυκλώνα χρησιμοποιείται ως πρωτοβάθμια επεξεργασία κατά τη διάρκεια του ερματισμού. Συνδυάζεται με κάποια δευτεροβάθμια επεξεργασία, αλλά και με άλλες πρωτοβάθμιες τεχνικές. Ο μηχανισμός χρησιμοποιεί φυγόκεντρους δυνάμεις για να διαχωρίσει τα στερεά σωματίδια από το νερό. Προϋπόθεση για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου είναι τα σωματίδια του έρματος να έχουν μεγαλύτερο ειδικό βάρος από το νερό. Η εισαγωγή του έρματος γίνεται εφαπτομενικά – μέσω ενός σωλήνα – στο άνω μέρος μιας κωνικής κατασκευής. Στη συνέχεια, με φυγόκεντρους δυνάμεις το νερό ακολουθεί μία σπειροειδή κίνηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, το νερό με τα ελαφρά σωματίδια να υπερχειλίζουν (overflow) και με μια αντλία να μεταφέρονται στη δεξαμενή έρματος. Τα βαρύτερα σωματίδια, με τη δράση των δυνάμεων της βαρύτητας και της φυγοκέντρου, απωθούνται στα τοιχώματα της κατασκευής και στη συνέχεια απομακρύνονται με την απορροή (underflow) [4, 25].

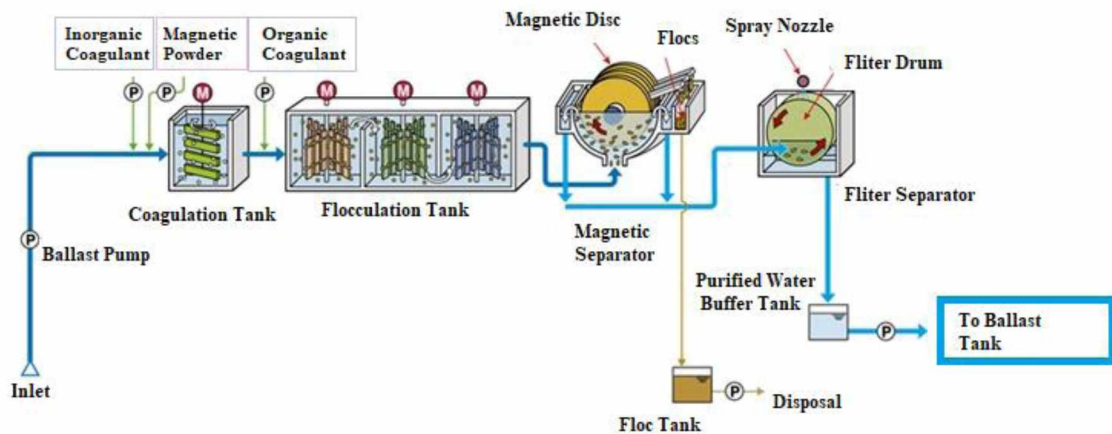


Εικόνα 17. Μηχανισμός Υδροκυκλώνα [26]

Ηλεκτρομηχανικός διαχωρισμός

Ο ηλεκτρομηχανικός διαχωρισμός (electro-mechanical separation), είναι μια τεχνική που βασίζεται στη προσθήκη πηκτικών μέσων (coagulant). Τα πηκτικά μέσα αναμιγνύονται με μαγνητική σκόνη πριν να προστεθούν στο νερό έρματος. Έχουν δε την ικανότητα να προσκολλώνται στα διάφορα σωματίδια του έρματος, ουδετεροποιώντας τις δυνάμεις που ασκούνται μεταξύ της ύλης του έρματος και προκαλώντας την αύξηση του μεγέθους τους. Τα σωματίδια με το αυξημένο μέγεθος καλούνται συσσωματώματα και αποτελούνται από τα σωματίδια του έρματος, τα πηκτικά μέσα και το μαγνητικό στοιχείο. Στη συνέχεια, τα συσσωματώματα που δημιουργούνται μπορούν να διαχωριστούν με μαγνητικό διαχωρισμό. Ένας άλλος τρόπος είναι η χρήση αερίου οξυγόνου και αζώτου που ιονίζονται από υπεριώδη ή μαγνητικά πεδία. Στη συνέχεια, το ιονισμένο αέριο εγχέεται στο νερό, προκαλώντας το σχηματισμό συσσωματωμάτων, τα οποία μπορούν να απομακρυνθούν με μαγνητικό

διαχωρισμό. Μια τεχνική που ενισχύει τη μέθοδο αυτή είναι η χρήση ενός κροκιδωτικού (flocculant), το οποίο μπορεί να αυξήσει επιπλέον το μέγεθος των συσσωματωμάτων. Τα κροκιδωτικά έχουν θετικά φορτία κατά μήκος της αλυσίδας τους και μπορεί να είναι άλατα τρισθενούς σιδήρου ή αλουμινίου ή να αποτελούνται από διάφορα πολυμερή, όπως πολυακρυλαμίδιο (polyacrylamide, PAA) ή πολυαιθυλενοξειδίο (polyethyleneoxide, PEO). Στη συνέχεια, τα συσσωματώματα μπορούν να απομακρυνθούν με διήθηση, με τον μηχανισμό του υδροκυκλώνα ή με μαγνητικό διαχωρισμό [2, 23, 27, 28]. Ένα σύστημα που αναπτύχθηκε για την επεξεργασία του θαλάσσιου έρματος και βασίζεται στη χρήση πηκτικών ή κροκιδωτικών μέσων, είναι το σύστημα Clear Ballast της εταιρίας Hitachi [29].

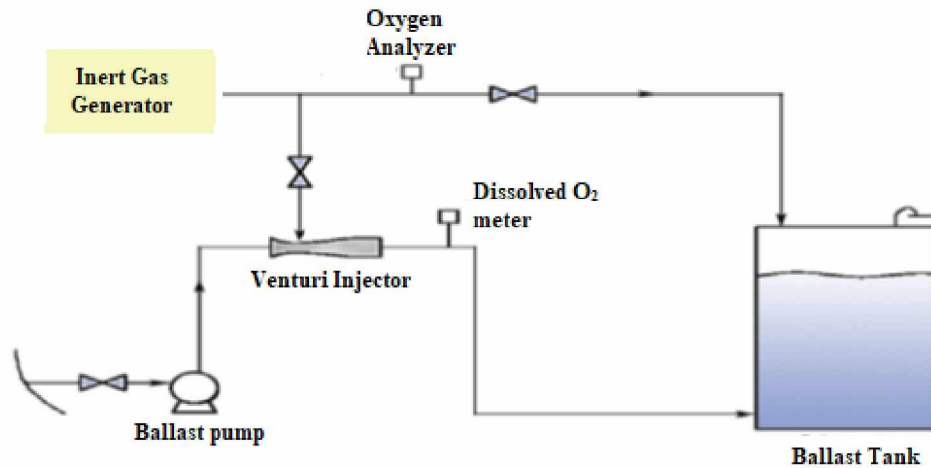


Εικόνα 18. Σύστημα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος “ClearBallast” [29]

3.2.2. Δευτεροβάθμια επεξεργασία – Φυσική επεξεργασία

Αποξυγόνωση

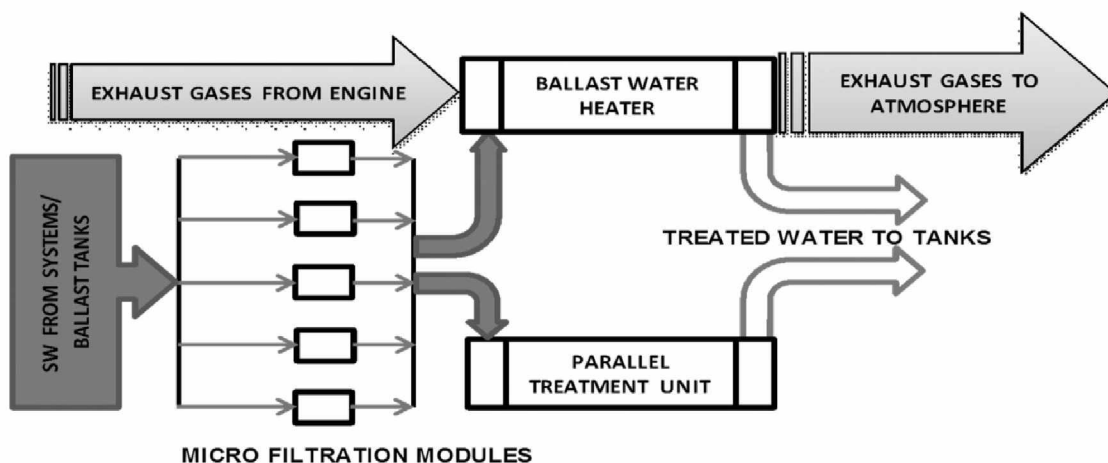
Η αποξυγόνωση (deoxygenation) είναι η διαδικασία αφαίρεσης του διαλυμένου οξυγόνου με τη εισαγωγή αδρανούς αερίου –κυρίως αέριο άζωτο – στη δεξαμενή. Η διαδικασία της αποξυγόνωσης επηρεάζει τους αερόβιους μικροοργανισμούς, οι οποίοι θα βρεθούν σε ένα «ασφυκτικό» περιβάλλον και τελικά θα οδηγηθούν στο θάνατο. Ακόμα, μπορεί να γίνει χρήση πρόσθετων βιολογικών παραγόντων, όπως είναι οι ζυμομύκητες, που είναι ικανοί να καταναλώσουν το οξυγόνο. Το πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι, αφού μειώνεται η συγκέντρωση του οξυγόνου, δεν υφίστανται οι οξειδωτικές του ιδιότητες και μειώνεται η τάση διάβρωσης της δεξαμενής. Μειονέκτημα αποτελεί η ύπαρξη οργανισμών που δεν χρησιμοποιούν ως πηγή το οξυγόνο, αλλά και η δυνατότητα ορισμένων μικροοργανισμών να αλλάζουν το μεταβολισμό τους ώστε να βρουν άλλη πηγή [30-32].



Εικόνα 19. Σχεδιάγραμμα συστήματος αποξυγόνωσης ^[30]

Θερμική επεξεργασία

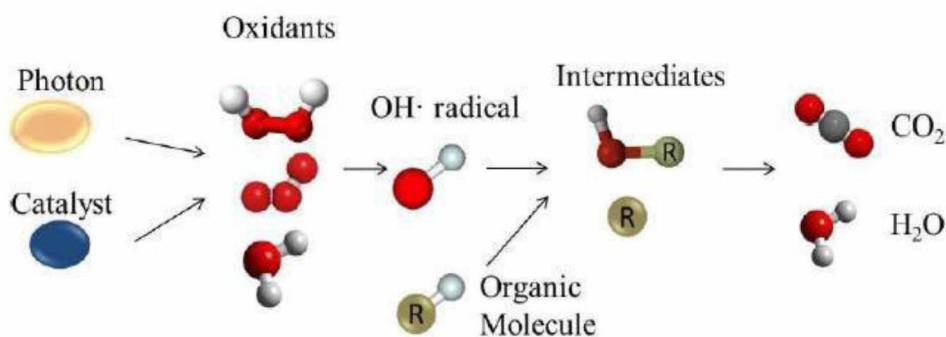
Η θερμική επεξεργασία προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών, προκαλώντας δυσλειτουργία στις μεταβολικές διαδικασίες των μικροοργανισμών, που τελικά οδηγούν στη καταστροφή τους. Η θερμότητα για την επεξεργασία του θαλάσσιου έρματος, μπορεί να προκύψει είτε από το μηχανοστάσιο του πλοίου (waste heat), είτε από εφεδρικούς λέβητες (back-up boilers) που υπάρχουν στο πλοίο. Ένας άλλος τρόπος είναι η εγκατάσταση νέων συστημάτων στο πλοίο για παραγωγή θερμότητας. Η θερμική επεξεργασία στους 40-45°C, μπορεί να μειώσει τον πληθυσμό ορισμένων οργανισμών, αλλά παράλληλα μπορεί να ευνοήσει την ανάπτυξη ορισμένων μεσόφιλων βακτηρίων. Η απόδοση της θερμικής επεξεργασίας εξαρτάται από το πόσο υψηλή είναι η θερμοκρασία, αλλά και από το χρόνο που αυτή εφαρμόζεται στο έρμα. Η αποτελεσματικότητα ενός τέτοιου συστήματος μπορεί να μειωθεί σε ψυχρές καιρικές συνθήκες και να απαιτεί μεγάλα ποσά ενέργειας για την ομοιόμορφη κατανομή της θερμοκρασίας σε όλη τη δεξαμενή ^[33, 34]. Μία ακόμα εναλλακτική μορφή μεθόδου είναι η θέρμανση με συστήματα μικροκυμάτων. Τα μικροκύματα απελευθερώνουν μεγαλύτερη θερμότητα σε λιγότερο χρόνο σε σχέση με τα συστήματα της συμβατικής θερμικής επεξεργασίας ^[35].



Εικόνα 20 Διάγραμμα συστήματος θερμικής επεξεργασίας ^[33]

Ανεπτυγμένη Τεχνολογία Οξειδωσης

Η ανεπτυγμένη τεχνολογία οξειδωσης (Advanced Oxidation Technology, AOT) υιοθετήθηκε από την εφαρμογή των τεχνικών της σε απόβλητα, θεωρείται αποτελεσματική έναντι των υδρόβιων ειδών του έρματος και αρκετά φιλική για το περιβάλλον. Στις τεχνολογίες ανεπτυγμένης οξειδωσης υπάγονται διαδικασίες όπως η σπηλαιώση, συνδυασμός τεχνικών – όπως UV ακτινοβολία και H_2O_2 , UV ακτινοβολία και O_3 -, φωτοκαταλυτικές αντιδράσεις του διοξειδίου τιτανίου (TiO_2) υπό την δράση UV ακτινοβολίας και η αντίδραση Fenton (αντίδραση $FeSO_4$ και H_2O_2). Η βασική αρχή των τεχνολογιών αυτών είναι η χρήση ενός συστήματος που οδηγεί στην επί τόπου παραγωγή ενεργών ουσιών, κυρίως ριζών υδροξυλίου (OH). Οι ρίζες υδροξυλίου είναι αρκετά ασταθείς και δραστηκές, με υψηλό δυναμικό οξειδωσης. Το υδροξύλιο δρα διασπώντας την κυτταροπλασματική μεμβράνη των μικροοργανισμών και αποσυνθέτοντας άλλους ρυπαντές, με τελικά προϊόντα CO_2 , H_2O και ανόργανα άλατα [36-38]

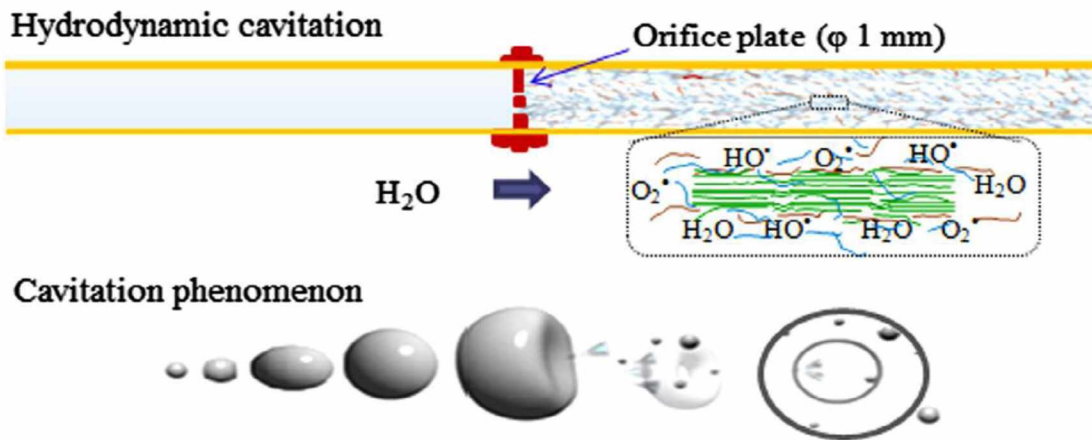


Εικόνα 21. Απεικόνιση σχηματισμού ριζών υδροξυλίου με τεχνολογία ανεπτυγμένης οξειδωσης^[39]

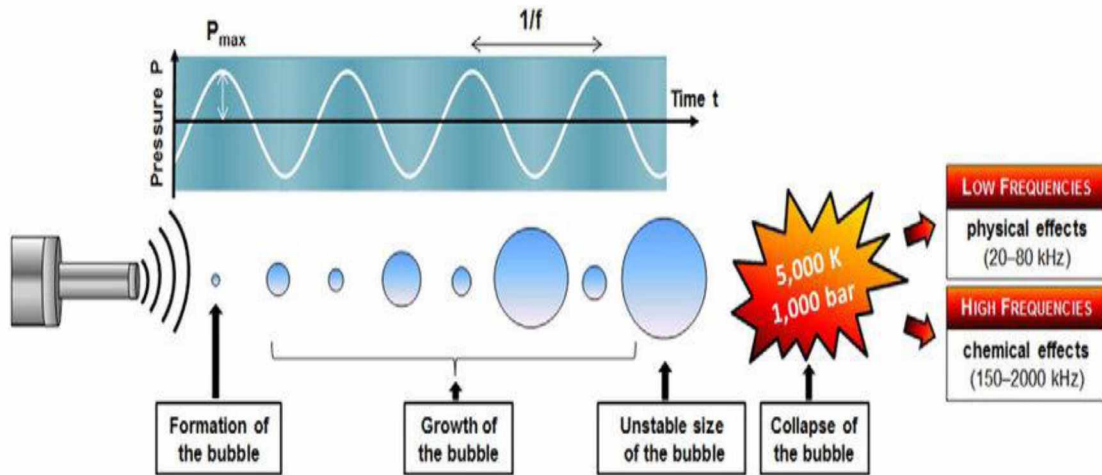
Σπηλαιώση

Η σπηλαιώση (cavitation) είναι ένα φαινόμενο που συμβαίνει λόγω ταχέων μεταβολών της πίεσης σε ένα ρευστό. Η μέθοδος της σπηλαιώσης έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία φυσαλίδων, οι οποίες στη συνέχεια καταρρέουν οδηγώντας στην απελευθέρωση ενέργειας. Τα φυσικοχημικά αποτελέσματα της σπηλαιώσης, περιλαμβάνουν την έκλυση υψηλών ποσοτήτων θερμότητας, την ανάπτυξη υψηλής πίεσης και το σχηματισμό ριζών υδροξυλίου (OH). Τα αποτελέσματα της κατάρρευσης των φυσαλίδων οδηγούν σε ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών, την απώλεια ενδοκυτταρικών δομών και τελικά το θάνατο των μικροοργανισμών. Η σπηλαιώση μπορεί να διακριθεί σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει την υδροδυναμική σπηλαιώση (hydrodynamic cavitation, HC), η οποία επιτυγχάνεται με τη χρήση αγωγών Venturi ή με ειδικές πλάκες με στόμια ή ειδικές βαλβίδες. Οι σωλήνες Venturi είναι σχεδιασμένοι ώστε σε ένα τμήμα τους να μειώνεται η διάμετρος του σωλήνα. Οι δίσκοι και οι πλάκες που χρησιμοποιούνται έχουν μικρά ανοίγματα που επιτρέπουν τη διέλευση του νερού. Οι συσκευές αυτές προκαλούν αύξηση της ταχύτητας του νερού όταν διέλθουν από αυτά, καθώς και τη τοπική μείωση της πίεσης, που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία φυσαλίδων. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκει η ακουστική σπηλαιώση (acoustic cavitation, AC) που τελείται με συστήματα που παράγουν υπερήχους. Τα συστήματα αυτά, αποτελούνται από μια γεννήτρια ηλεκτρικής ή μηχανικής ενέργειας και ένα μετατροπέα, ο οποίος μετατρέπει αυτή την ενέργεια σε δονήσεις υψηλής συχνότητας. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι παράγεται

υψηλή θερμοκρασία και συχνότητα θορύβου, τα οποία προκαλούν δονήσεις στα συστήματα του πλοίου. Ακόμα το φαινόμενο της σπηλαιώσης προκαλεί διάβρωση στις αντλίες και στους σωλήνες του πλοίου [40-45].



Εικόνα 22. Υδροδυναμική Σπηλαιώση με χρήση ειδικών πλακών [46]

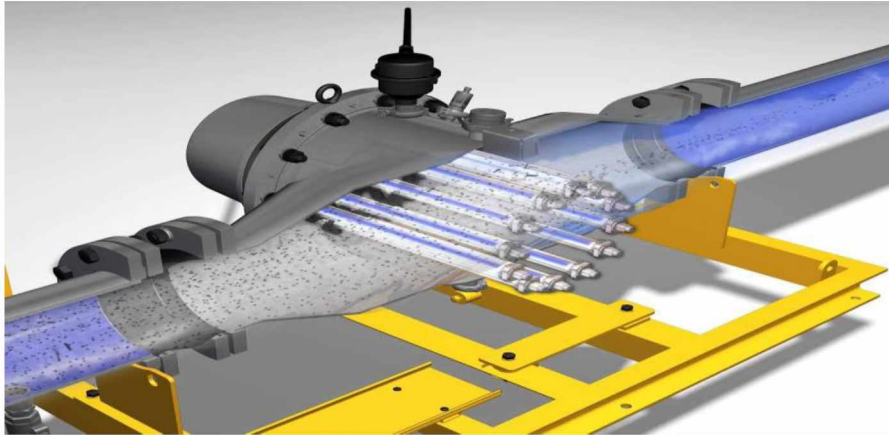


Εικόνα 23. Ακουστική Σπηλαιώση [44]

Υπεριώδης ακτινοβολία

Η επεξεργασία θαλάσσιου έρματος με χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV Irradiation) αποτελεί μια μέθοδο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο κατά τη διάρκεια της διαδικασίας του ερματισμού όσο και πριν τη διαδικασία του αφερματισμού. Η υπεριώδης ακτινοβολία δρα προκαλώντας φωτοχημικές αντιδράσεις στο γενετικό υλικό και στις πρωτεΐνες των μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται ο πολλαπλασιασμός τους και να οδηγούνται στο θάνατο. Τα μειονεκτήματα της εντοπίζονται στο ότι καταναλώνει μεγαλύτερο ποσοστό ηλεκτρικής ενέργειας σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους και στην αναποτελεσματικότητα της σε θολά νερά. Επίσης, ορισμένοι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην ακτινοβολία, ενώ κάποιοι άλλοι διαθέτουν επιδιορθωτικούς μηχανισμούς που μπορεί να διορθώσουν τις βλάβες που προέκυψαν από την επίδραση της ακτινοβολίας, με αποτέλεσμα την αναγέννηση τους. Η απολύμανση με τη χρήση UV ακτινοβολίας οδηγεί στη παραγωγή παραπροϊόντων όπως είναι οι αλδεύδες (aldehydes), τα καρβοξυλικά οξέα (carboxylic

acids), οι οργανο-αλογονομένες ενώσεις (organohalogenes), τα νιτρώδη (nitrite) και τα βρωμικά (bromate) άλατα [22, 47-49].



Εικόνα 24. Μονάδα UV ακτινοβολίας [50]

3.2.3. Δευτεροβάθμια επεξεργασία – Χημική επεξεργασία

Οι χημικές μέθοδοι κάνουν χρήση δραστικών ουσιών, οι οποίες σύμφωνα με την οδηγία G9 του IMO, είναι “ουσίες που έχουν γενική ή ειδική δράση στους επιβλαβείς υδρόβιους οργανισμούς και μικροοργανισμούς” [8]. Οι ουσίες αυτές μπορεί να είναι τοξικές, διαβρωτικές, εύφλεκτες, εκρηκτικές ή υπεύθυνες για καρκινογένεση. Για το λόγο αυτό, είναι απαραίτητο να επιλέγονται ουσίες με γνωστές φυσικοχημικές ιδιότητες, να παράγονται και να χρησιμοποιούνται με προσοχή, καθώς και να αποθηκεύονται κατάλληλα. Επιπλέον, είναι σημαντικό οι ουσίες αυτές να επιλέγονται με προσοχή, καθώς ενδέχεται να προκαλούν αύξηση της τάσης διάβρωσης των δεξαμενών και των σωληνώσεων του πλοίου [9].

Στις ουσίες αυτές, ανήκουν διάφορα βιοκτόνα, τα οποία επηρεάζουν τις φυσιολογικές λειτουργίες του μεταβολισμού και της αναπαραγωγής των οργανισμών, προκαλούν βλάβες στο γενετικό υλικό, στη λειτουργία των πρωτεϊνών, στη δομή και διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης και του κυτταρικού τοιχώματος των μικροοργανισμών, με επακόλουθο αποτέλεσμα τη διάλυση αυτών και τελικά τη θανάτωσή τους [51]. Παρόλη τη σημαντικότητα των δραστικών ουσιών για την καταστροφή οργανισμών και μικροοργανισμών, η χρήση τους οδηγεί στην παραγωγή παραπροϊόντων απολύμανσης (Disinfection by – products, DPBs) μέσω αντιδράσεων με τις διάφορες ουσίες που περιέχονται στο θαλασσινό νερό, τα οποία μπορεί να είναι επιβλαβή για την ανθρώπινη υγεία ή το περιβάλλον. Σύμφωνα με την ανανεωμένη λίστα του IMO, το 2019, υπάρχουν 45 συστήματα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος που κάνουν χρήση ενεργών ουσιών και έχουν λάβει την τελική έγκριση από τον IMO, ενώ συνολικά 61 συστήματα με χρήση ενεργών ουσιών έχουν λάβει την βασική έγκριση [8].

Η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης εξαρτάται από το είδος και την ποσότητα του απολυμαντικού μέσου – και από παράγοντες όπως είναι η θερμοκρασία, το pH, ο χρόνος επαφής, ο αριθμός και το είδος των μικροοργανισμών. Ο χρόνος επαφής, δηλαδή ο χρόνος που χρειάζεται για την καταστροφή ή θανάτωση των μικροοργανισμών, είναι σημαντικός παράγοντας, καθώς πρέπει να συσχετίζεται με το χρόνο που το πλοίο πραγματοποιεί το ταξίδι του, ώστε όταν θα γίνει η απόρριψη θαλάσσιου έρματος να έχει

ήδη λάβει τέλος η απολύμανση. Η δράση του απολυμαντικού μέσου σε σχέση με το χρόνο επαφής εκφράζεται από το νόμο Chick ^[52].

$$N = N_0 e^{-kt}$$

Όπου,

N: αριθμός μικροοργανισμών συγκεκριμένου είδους μετά από χρόνο t

N₀: ο αρχικός αριθμός μικροοργανισμών συγκεκριμένου είδους

k: σταθερά δράσης του απολυμαντικού

t: ο χρόνος επαφής

Η θερμοκρασία του νερού διαδραματίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην ταχύτητα των αντιδράσεων. Τα απολυμαντικά που χρησιμοποιούνται, ακολουθούν τον γενικό κανόνα ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνεται και η δράση τους. Η επίδραση του pH στην απολύμανση, ανάλογα με το απολυμαντικό μέσο που χρησιμοποιείται, μπορεί να είναι διαφορετική. Η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης εξαρτάται από το είδος και την ποσότητα απολυμαντικού με βάση τη δραστηριότητα του έναντι των μικροοργανισμών. Δεδομένου ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν μια αυξημένη αντοχή σε απολυμαντικά, το είδος και ο αριθμός των μικροοργανισμών αποτελεί επίσης σημαντικό παράγοντα στην απολύμανση.

Μη οξειδωτικά βιοκτόνα

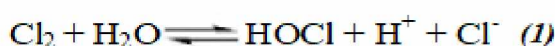
Τα μη οξειδωτικά βιοκτόνα επεμβαίνουν στις αναπαραγωγικές και μεταβολικές λειτουργίες των οργανισμών. Οι ουσίες αυτές θεωρούνται περισσότερο φιλικές προς το περιβάλλον, καθώς δεν παράγονται παραπροϊόντα απολύμανσης. Τέτοιες ουσίες είναι τα οξέα, οι αλδεΐδες, οι αμίνες, οι κετόνες και τα μέταλλα. Αυτά που έχουν ελεγχθεί για την χρήση τους στο θαλάσσιο έρμα, είναι το SeaKleen – που περιέχει μεναδιόνη (menadione), ένα συνθετικό παράγωγο της βιταμίνης K – και το Mexel, το οποίο περιέχει μίγμα αλκυλαμινών. Το μειονέκτημα της χρήσης τους είναι ότι απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος για την απολύμανση του θαλάσσιου έρματος ^[49, 53].

Οξειδωτικά βιοκτόνα

Η μεγαλύτερη ομάδα χρησιμοποιούμενων ενεργών ουσιών είναι τα οξειδωτικά βιοκτόνα, τα οποία δρουν κυρίως καταστρέφοντας τις οργανικές δομές των οργανισμών. Τα οξειδωτικά βιοκτόνα μπορούν να προστεθούν ή να παραχθούν επί τόπου. Η χρήση τους στην απολύμανση του θαλάσσιου έρματος υιοθετήθηκε από την χρήση των οξειδωτικών βιοκτόνων στην απολύμανση του πόσιμου νερού και στην απολύμανση των αστικών λυμάτων πριν την απόρριψη τους σε έναν αποδέκτη ^[54]. Στα οξειδωτικά βιοκτόνα ανήκουν το χλώριο – είτε όταν προέρχεται από αέριο χλώριο, υποχλωριώδες νάτριο, είτε από την επί τόπου παραγωγή χλωρίου με τη μέθοδο της ηλεκτροχλωρίωσης–, το όζον, το υπεροξικό οξύ και το διοξειδίο του χλωρίου. Όσον αφορά τη χλωρίωση, ανεξάρτητα από τη μέθοδο παραγωγής, το παραγόμενο υποχλωριώδες ανιόν (ClO⁻) είναι αυτό που έχει την απολυμαντική δράση σε αλκαλικό pH.

Χλώριο (Chlorine)

Το αέριο χλώριο (Cl_2), είναι το πιο διαδεδομένο απολυμαντικό για την απολύμανση του νερού. Ανήκει στην ομάδα των αλογόνων, συνδέεται εύκολα με στοιχεία προς σχηματισμό ουσιών και παρουσιάζει αποτελεσματική απολυμαντική δράση, τόσο σε μικρούς όσο και σε μεγάλους όγκους νερού. Μειονεκτήματα αποτελούν η παραγωγή χλωριωμένων παραπροϊόντων απολύμανσης – ύποπτα για την πρόκληση καρκίνου στον άνθρωπο –, η δυσκολία στη μεταφορά του, η οξειδωτική του ικανότητα και η αδυναμία καταστροφής ορισμένων μικροοργανισμών που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στο χλώριο. Το χλώριο αντιδρά με το νερό, σχηματίζοντας υποχλωριώδες οξύ (HOCl) και υδροχλωρικό οξύ (HCl) (1). Το υποχλωριώδες οξύ είναι ένα ασθενές οξύ και δίσταται στο νερό σε υποχλωριώδες ανιόν (ClO^-) και οξόνια (H_3O^+) (2) [55]. Το υποχλωριώδες οξύ και το υποχλωριώδες ανιόν βρίσκονται σε περίσσεια και αναφέρονται ως ενεργό υπολειμματικό χλώριο. Η απολυμαντική δράση του βασίζεται στην ικανότητα των μορίων ή των ιόντων του χλωρίου, αρχικά να καταστρέφει το κυτταρικό τοίχωμα των μικροοργανισμών και στη συνέχεια να αντιδρά με τα ένζυμα και τις πρωτεΐνες αυτών, αντικαθιστώντας ένα άτομο υδρογόνου. Η αντικατάσταση αυτή οδηγεί σε μεταβολές της λειτουργίας τους, με αποτέλεσμα το θάνατο του μικροοργανισμού [56, 57].

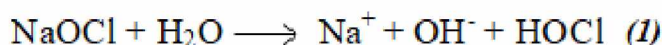


pKa (HOCl)=7,53

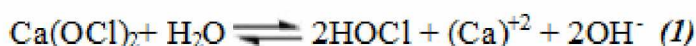


Υποχλωριώδες νάτριο (Sodium hypochlorite)

Το υποχλωριώδες νάτριο (NaOCl) είναι ένα διάλυμα που χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό. Η απολυμαντική του δράση είναι ίδια με αυτή του χλωρίου. Παράγεται είτε με την ανάμιξη αερίου χλωρίου (Cl_2) και καυστικού νατρίου (NaOH), είτε με τη διαδικασία της ηλεκτροχλωρίωσης, με την οποία ελαχιστοποιούνται οι κίνδυνοι από την μεταφορά και αποθήκευση του χλωρίου. Η προσθήκη υποχλωριώδους νατρίου στο νερό οδηγεί στην παραγωγή υποχλωριώδους οξέως (1), το οποίο στη συνέχεια διασπάται σε υποχλωριώδες ανιόν (ClO^-) και οξόνια (H_3O^+) (2) [56, 58].

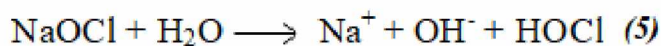
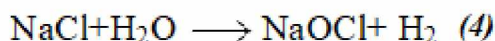
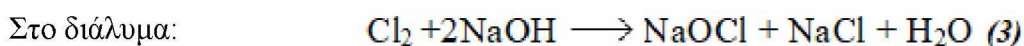
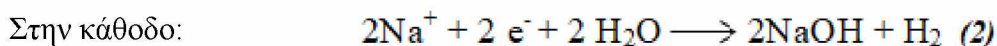


Ένα ακόμα διάλυμα που χρησιμοποιείται για την απολύμανση είναι το υποχλωριώδες ασβέστιο (Ca(OCl)_2), το οποίο υδρολύεται ως εξής [59].



Ηλεκτροχλωρίωση

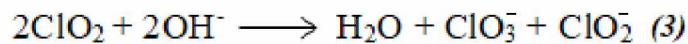
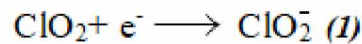
Η μέθοδος της ηλεκτρολυτικής επεξεργασίας εφαρμόζεται σε ευρύ φάσμα δραστηριοτήτων, όπως είναι η απολύμανση των βιομηχανικών λυμάτων, του πόσιμου νερού και του νερού έρματος. Η διαδικασία της ηλεκτρολυτικής απολύμανσης ή αλλιώς ηλεκτροχλωρίωση, βασίζεται στην εφαρμογή ηλεκτρικού ρεύματος μέσω ηλεκτροδίων. Αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδο απολύμανσης του θαλάσσιου έρματος, η οποία πλεονεκτεί έναντι άλλων χημικών μεθόδων, καθώς δεν απαιτεί μεταφορά ενεργών ουσιών, δεν έχει περίπλοκο εξοπλισμό και έχει μικρό κόστος – όταν χρησιμοποιεί ενέργεια από ηλιακούς συλλέκτες. Τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούνται, κατασκευάζονται από τιτάνιο (Ti) και επικαλύπτονται με οξειδία μετάλλων, όπως για παράδειγμα το οξείδιο του ρουθηνίου (RuO₂), το οξείδιο του ιριδίου (IrO₂) και το οξείδιο του μολύβδου (PbO₂). Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως επικάλυψη των ηλεκτροδίων η πλατίνα, ο γραφίτης ή το διαμάντι. Η ηλεκτροχλωρίωση προκαλεί την ηλεκτρόλυση του χλωριούχου νατρίου (NaCl), με αποτέλεσμα την παραγωγή χλωρίου και των οξειδωτικών του παραγώγων. Το χλωριούχο νάτριο διασπάται σε κατιόντα νατρίου (Na⁺) και ανιόντα χλωρίου (Cl⁻). Τα ανιόντα χλωρίου αντιδρούν με το ηλεκτρόδιο της ανόδου προς παραγωγή ελεύθερου χλωρίου (Cl₂) (1). Τα κατιόντα νατρίου αντιδρούν με το ηλεκτρόδιο της καθόδου προς παραγωγή NaOH και υδρογόνου (H₂) (2). Τα παραγόμενα ελεύθερο χλώριο (Cl₂) και καυστικό νάτριο (NaOH), αντιδρούν σχηματίζοντας χλωριούχο νάτριο (NaCl), υποχλωριώδες νάτριο (NaOCl) και νερό (H₂O) (3). Το υποχλωριώδες νάτριο (NaOCl), στη συνέχεια διασπάται σε κατιόντα νατρίου, ρίζες υδροξυλίου και υποχλωριώδες οξύ (5). Το υποχλωριώδες οξύ δίσταται σε υποχλωριώδες ανιόν και σε οξόνια (6) [2, 23, 60].



Διοξείδιο του χλωρίου (Chlorine dioxide)

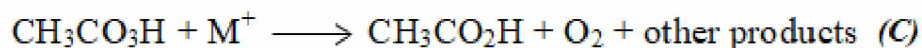
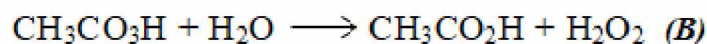
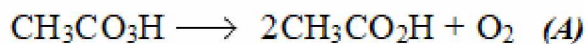
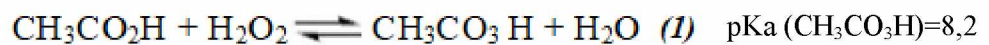
Το διοξείδιο του χλωρίου (chlorine dioxide, ClO₂), που χρησιμοποιείται για την απολύμανση του νερού, είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό και αρκετά πτητικό αέριο. Με τη χρήση του, παράγονται χαμηλές συγκεντρώσεις αλογονομένων παραπροϊόντων, ενώ παρουσιάζει απολυμαντική δράση σε μεγάλο εύρος τιμών pH. Επιπλέον, το διοξείδιο του χλωρίου είναι αποτελεσματικό έναντι ορισμένων ιών και πρωτοζώων και δεν αντιδρά με αμμώνια προς σχηματισμό χλωραμινών. Επειδή το διοξείδιο του χλωρίου σε

αέρια μορφή έχει εκρηκτικές ιδιότητες, μπορεί να αποθηκεύεται μόνο ως υγρό στους 4°C, αλλά για μικρό χρονικό διάστημα, καθώς διασπάται σε χλώριο και οξυγόνο. Για την αποτροπή ατυχημάτων λόγω εκρήξεων, είναι προτιμότερο το διοξειδίου του χλωρίου να παράγεται επί τόπου, είτε ως υδατικό διάλυμα είτε ως αέριο. Το διοξείδιο του χλωρίου, σε αντίθεση με το χλώριο, που αντικαθιστά άτομα υδρογόνου, δρα ως ελεύθερη ρίζα, αφαιρώντας ηλεκτρόνια από τα μόρια του κυττάρου των μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία τους. Η απολύμανση με χρήση διοξειδίου του χλωρίου οδηγεί στην παραγωγή χλωρίτη ή αλλιώς χλωριώδων ιόντων (chlorite ion, ClO₂⁻) **(1)** και χλωριούχων ιόντων (chloride ion, Cl⁻) **(2)**, ενώ σε αλκαλικό περιβάλλον παράγεται χλωρίτης (chlorite ion, ClO₂⁻) και χλωρικά ιόντα (chlorate ion, ClO₃⁻) **(3)** [56, 57, 61, 62].



Υπεροξικό οξύ (Peracetic acid, PAA)

Το υπεροξικό οξύ (CH₃COOOH) είναι ένα οξειδωτικό με ισχυρή απολυμαντική δράση, το οποίο χρησιμοποιείται για την απολύμανση του πόσιμου νερού, στη βιομηχανία φαρμάκων, τροφίμων και χάρτου, σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, καθώς και για την απολύμανση θαλάσσιου έρματος. Παρουσιάζει αποτελεσματική απολυμαντική δράση ακόμη και σε μικρές συγκεντρώσεις, ενώ είναι ικανό να καταστρέφει βακτήρια, ιούς, μύκητες και σπόρους βακτηρίων, προκαλώντας την οξείδωση της εξωτερικής μεμβράνης των μικροοργανισμών. Το υπεροξικό οξύ παράγεται από την ανάμιξη οξικού οξέως με υπεροξείδιο του υδρογόνου (1). Η διάλυση του υπεροξικού οξέως σε νερό, μπορεί να περιγραφεί με 3 διαφορετικές αντιδράσεις, την αυθόρμητη διάσπαση **(A)**, την υδρόλυση **(B)** και την καταλυτική διάσπαση μέσω μετάλλου **(C)** [56, 63-65]. Για την απολύμανση του θαλάσσιου έρματος, χρησιμοποιείται από 3 συστήματα διαχείρισης θαλάσσιου έρματος που έχουν λάβει την τελική έγκριση από τον IMO, ένα διάλυμα υπό την εμπορική ονομασία Peraclean Ocean [8].



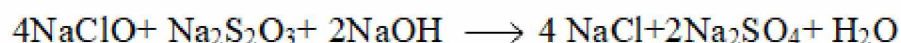
Όζον (Ozone)

Το όζον (O₃) είναι ένα ασταθές αέριο, που φυσιολογικά απαντάται στη στρατόσφαιρα, αποτρέποντας την υπεριώδη ακτινοβολία του ήλιου να φτάσει στην επιφάνεια της Γης. Στην τελευταία, η παρουσία του θεωρείται ως ρυπαντής, καθώς προκαλεί βλάβες στους βλεννογόνους και κυρίως στον αναπνευστικό ιστό, αλλά και στους ιστούς των φυτών. Το όζον παρουσιάζει υψηλό δυναμικό οξειδωσης και χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό σε διάφορες βιομηχανίες, όπως και στην απολύμανση του νερού. Παράγεται επί τόπου, με γεννήτριες που χρησιμοποιούν το οξυγόνο του ατμοσφαιρικού αέρα, οξειδώνει τις πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης και έπειτα όλα τα απαραίτητα συστατικά του κυττάρου, όπως τα ένζυμα και το γενετικό υλικό. Η χρήση του στην απολύμανση του θαλάσσιου έρματος είναι αποτελεσματική, καθώς με χαμηλές συγκεντρώσεις και μικρό χρόνο έκθεσης, μπορεί να καταστρέφει παθογόνους μικροοργανισμούς και ιούς ^[56, 65].

3.2.3.1. Εξουδετέρωση ενεργών ουσιών

Τα συστήματα επεξεργασίας έρματος που κάνουν χρήση ενεργών ουσιών είναι εξοπλισμένα με σύστημα ανίχνευσης της συγκέντρωσης του υπολειμματικού οξειδωτικού, ώστε να βεβαιώνεται ότι πραγματοποιείται η απολύμανση. Επιπλέον, επειδή οι ενεργές ουσίες που χρησιμοποιούνται για την απολύμανση του έρματος παραμένουν ως υπολειμματικό οξειδωτικό, ακολουθείται συνήθως πριν την απόρριψη του έρματος ένα στάδιο επεξεργασίας. Η επιπλέον επεξεργασία γίνεται με χρήση αναγωγικών παραγόντων των ενεργών ουσιών, οι οποίοι βοηθούν στη μείωση ή ουδετεροποίηση του υπολειμματικού οξειδωτικού (Total Residual Oxidant, TRO), έτσι ώστε η συγκέντρωση αυτών να ανταποκρίνεται στη μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή απόρριψης των ενεργών ουσιών. Τέτοιοι παράγοντες είναι το διθειώδες νάτριο (sodium bisulfate), το θειοθειικό νάτριο (sodium thiosulfate), το θειώδες νάτριο (sodium sulphite), το βιοθειώδες νάτριο (sodium biosulphite), ο ενεργός άνθρακας (activated carbon) και το θειοθειικό άλας (thiosulphate). Η εξουδετέρωση του υπολειμματικού οξειδωτικού αποτελεί ένα σημαντικό στάδιο, καθώς έτσι προλαμβάνονται οι αρνητικές επιπτώσεις που μπορούν να δημιουργηθούν από τα υπολειμματικά οξειδωτικά, όπως είναι η περαιτέρω παραγωγή των παραπροϊόντων απολύμανσης. Βέβαια, αυτή η επιπλέον επεξεργασία δεν είναι ικανή να μειώσει ή να απομακρύνει τη συγκέντρωση των παραπροϊόντων απολύμανσης που έχουν ήδη παραχθεί κατά τη διαδικασία της απολύμανσης. Η αποτελεσματικότητα των αναγωγικών παραγόντων εξαρτάται από τη θερμοκρασία, την αλατότητα του νερού και το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη στιγμή της απολύμανσης μέχρι την απόρριψη του έρματος ^[23, 56].

Η αντίδραση για το θειοθειικό νάτριο (sodium thiosulfate- Na₂S₂O₃) είναι η εξής ^[23]:



3.3. Παραπροϊόντα απολύμανσης

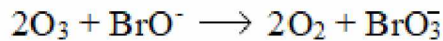
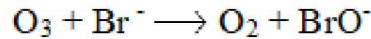
Τα παραπροϊόντα απολύμανσης (disinfection by-products, DBPs) σε χλωριωμένο πόσιμο νερό, ανακαλύφθηκαν στις αρχές της δεκαετίας του 1970. Έκτοτε ακολούθησαν αρκετές έρευνες για την μελέτη των ουσιών αυτών, τον τρόπο σχηματισμού τους και των επιπτώσεων που μπορεί να έχουν στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Τα παραπροϊόντα απολύμανσης σχηματίζονται όταν το χρησιμοποιούμενο οξειδωτικό ή/και το ολικό υπολειμματικό οξειδωτικό (Total Residual Oxidant, TRO) έρθει σε επαφή με οργανικές και ανόργανες πρόδρομες ουσίες. Στις οργανικές πρόδρομες ουσίες περιλαμβάνεται κυρίως η φυσική οργανική ύλη (Natural Organic Matter), συμπεριλαμβανομένων των οργανισμών, ενώ στις ανόργανες πρόδρομες ουσίες ανήκουν τα αλογονωμένα ιόντα. Ο σχηματισμός των παραπροϊόντων απολύμανσης εξαρτάται από τις ιδιότητες και τη δόση του απολυμαντικού μέσου, από το χρόνο επαφής και από τα περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά του νερού, όπως είναι η θερμοκρασία, το pH, η συγκέντρωση αζωτούχων και οργανικών ενώσεων, καθώς και η συγκέντρωση των αλογονιδίων ^[7, 66]. Συνολικά, περισσότερες από 600 ενώσεις έχουν αναγνωριστεί ως παραπροϊόντα απολύμανσης, αλλά μόνο για ορισμένες ομάδες ουσιών έχουν γίνει εκτεταμένες έρευνες τοξικότητας και έχουν καθοριστεί όρια για την ύπαρξη τους στο πόσιμο νερό (regulated DBPs). Στη κατηγορία των ουσιών που έχει καθοριστεί παραμετρική τιμή ανήκουν κυρίως οργανο-αλογονωμένες ενώσεις, όπως τα τριαλογονομεθάνια και τα αλογονοξικά οξέα, μαζί με ορισμένα αλογονοακετονιτρίλια, καθώς και ανόργανες ενώσεις. Η άλλη κατηγορία ουσιών είναι ενώσεις για τις οποίες δεν έχουν καθοριστεί όρια ή είναι αναδυόμενες (un-regulated DBPs or emerging DBPs), παράγονται δηλαδή σε ορισμένες περιπτώσεις και συνήθως σε χαμηλές συγκεντρώσεις – μπορεί όμως να είναι περισσότερο τοξικά. Σε αυτή την κατηγορία συγκαταλέγονται ουσίες όπως τα ιωδιωμένα παραπροϊόντα, τα αλογονονιτρομεθάνια, οι αλογονοκετόνες και οι μη αλογονωμένες ουσίες, όπως οι N-νιτροζαμίνες που παράγονται κατά τη χρήση χλωραμινών ως απολυμαντικό μέσο ^[67-69].

3.3.1. Παράγοντες σχηματισμού παραπροϊόντων απολύμανσης

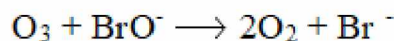
Μία παράμετρος που επηρεάζει το σχηματισμό των παραπροϊόντων απολύμανσης είναι η παρουσία, το είδος και η συγκέντρωση αλογονιδίων στο νερό. Αυτές οι ανόργανες ουσίες αντιδρούν με το ελεύθερο οξειδωτικό (χλώριο, όζον), σχηματίζοντας δευτερογενή οξειδωτικά, όπως είναι το HOBr. Τα δευτερογενή οξειδωτικά στη συνέχεια αντιδρούν με την οργανική ύλη του νερού, με αποτέλεσμα το σχηματισμό σύνθετων παραπροϊόντων απολύμανσης ^[70]. Κατά την απολύμανση πόσιμου νερού παρατηρούνται κυρίως χλωριωμένα παραπροϊόντα απολύμανσης. Σε περίπτωση που η απολύμανση γίνεται σε νερό που προέρχεται από περιοχές όπου έχει διεισδύσει υφάλμυρο νερό ή σε θαλασσινό νερό – για παράδειγμα απολύμανση θαλασσινού νερού προς χρήση σε πισίνες ή απολύμανση του θαλάσσιου έρματος –, παρατηρούνται επιπλέον βρωμιωμένα και ιωδιωμένα παραπροϊόντα απολύμανσης ^[71]. Η διαφορά αυτή οφείλεται στη διαφορετική περιεκτικότητα αλογονιδίων και ολικού οργανικού άνθρακα στις δύο κατηγορίες υδάτων.

Στο θαλασσινό νερό περιέχεται βρώμιο (Br) σε συγκεντρώσεις 65-68 mg/L, με τη μορφή αλάτων βρωμιδίου ή άλλων οργανικών ουσιών βρωμίου. Η απολύμανση με

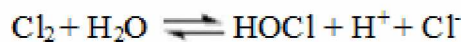
χλώριο ή όζον οδηγεί στην οξείδωση του βρωμίου, με αποτέλεσμα την παραγωγή βρωμικών ιόντων (Br^-), υποβρωμικού ιόντος (hypobromite ion, BrO^-) και υποβρωμικού οξέως (hypobromous acid, HOBr). Τα τελευταία αντιδρούν με την οργανική ύλη του έρματος προς σχηματισμό βρωμιωμένων παραπροϊόντων. Πιο συγκεκριμένα, όταν η απολύμανση του έρματος γίνει με όζον, τότε το βρωμίδιο του θαλάσσιου νερού οξειδώνεται από το όζον και σχηματίζονται υποβρωμικά ιόντα. Τα βρωμιούχα ιόντα σχηματίζονται από τη σταδιακή οξείδωση του βρωμιδίου με όζον σε υποβρωμίτη (BrO^-)^[23].



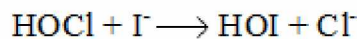
Το όζον συνεχίζει να καταναλώνεται από μια παράλληλη αντίδραση όζοντος και υποβρωμίτη:



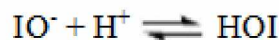
Όταν η απολύμανση του έρματος γίνει με χλώριο, τότε αυτό μπορεί να αντιδράσει με το βρωμίδιο και να σχηματιστεί υποβρωμικό οξύ (HOBr)^[23]:



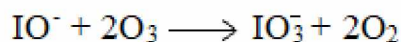
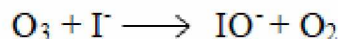
Επίσης, το θαλασσινό νερό περιέχει ιώδιο με τη μορφή ανιόντων ιωδίου (I^-), με το οποίο σχηματίζονται ιωδιωμένα παραπροϊόντα. Το υποχλωριώδες οξύ αντιδρά με τα ανιόντα ιωδίου προς σχηματισμό υποϊωδικού οξέως (hyperiiodous acid, HOI):



Το HOBr που έχει σχηματιστεί, αντιδρά με το IO^- προς σχηματισμό IO_3^- (iodate):



Επίσης, τα ανιόντα ιωδίου αντιδρούν με το όζον:

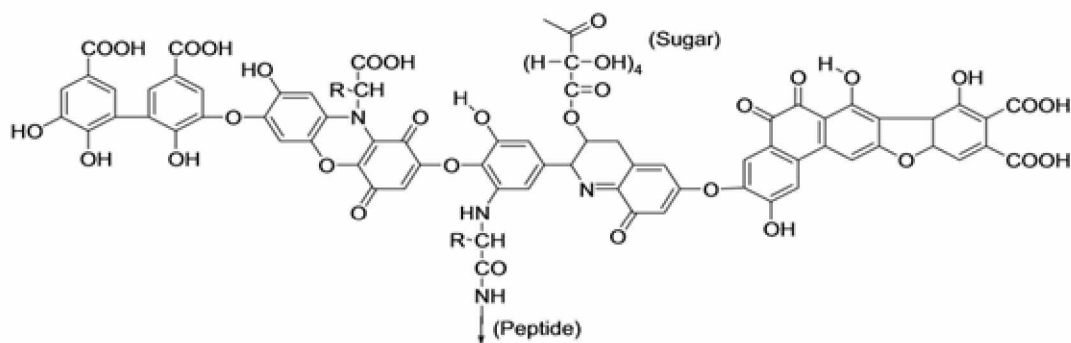


Σε περίπτωση που η απολύμανση του έρματος γίνει με τη χρήση υπεροξικού οξέως, η συγκέντρωση του οξέως και του υπεροξειδίου του υδρογόνου, καθώς και η συγκέντρωση ανιόντων ιωδίου (I^-), επηρεάζουν την παραγωγή των ιωδιωμένων τριαλογονομεθανίων (I-THM) και ιωδιωμένων αλογονικών οξέων (I-HAA). Όταν σε

ένα υδατικό διάλυμα που περιέχει μεγάλες συγκεντρώσεις ιωδίου, η συγκέντρωση του υπεροξικού οξέως είναι μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου, σχηματίζονται μονοϊωδοξικό οξύ (Monoiodoacetic acid, MIAA), διϊωδοξικό οξύ (Diiodoacetic acid, DIIAA) και ιωδοφόρμιο (Iodoform- CHI_3) [72].

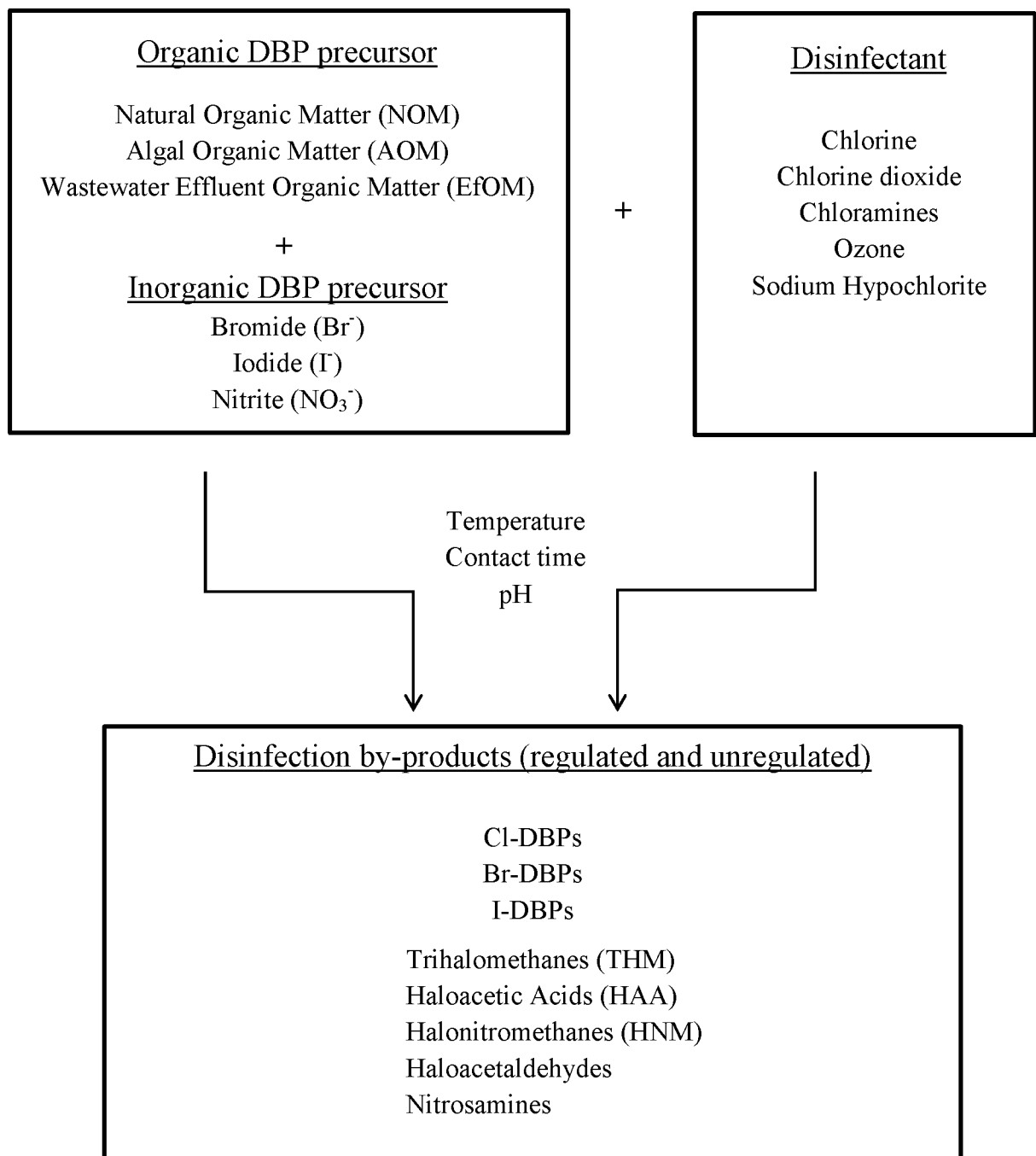
Επιπλέον των αλογονομένων ιόντων που βρίσκονται στο νερό, το είδος και η ποσότητα της φυσικής οργανικής ύλης (Natural Organic Matter) που περιέχεται στο νερό διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην παραγωγή των παραπροϊόντων απολύμανσης. Η διαλυμένη οργανική ύλη μπορεί να προέρχεται από αλλόχθονους οργανισμούς ή επίγεια υλικά πετρωμάτων, από αυτόχθονους οργανισμούς και από συνθετικές οργανικές ενώσεις, προερχόμενες από ανθρώπινη δραστηριότητα [73]. Μεταξύ αυτών, στη φυσική οργανική ύλη συγκαταλέγονται χουμικές ενώσεις, φουλβικά οξέα, υδρογονάνθρακες, καρβοξυλικά οξέα, ταννίνες, πεπτίδια, αμινοξέα, αρωματικές αμίνες, και υδατάνθρακες [69].

Πιο συγκεκριμένα, τα θραύσματα της διαλυμένης οργανικής ύλης (Dissolved Organic Matter, DOM) που έχουν αναγνωριστεί ως κύριες πρόδρομες ουσίες για την παραγωγή των παραπροϊόντων, περιλαμβάνουν τις χουμικές ενώσεις και τα φουλβικά οξέα. Οι χουμικές ενώσεις είναι ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους, αποτελούμενες από αρωματικούς ή αλειφατικούς δακτύλιους, φαινόλες και καρβοξύλια. Οι χουμικές ενώσεις και τα φουλβικά οξέα απαρτίζουν το μεγαλύτερο μέρος του διαλυμένου οργανικού άνθρακα (Dissolved Organic Carbon, DOC) στο νερό [73].



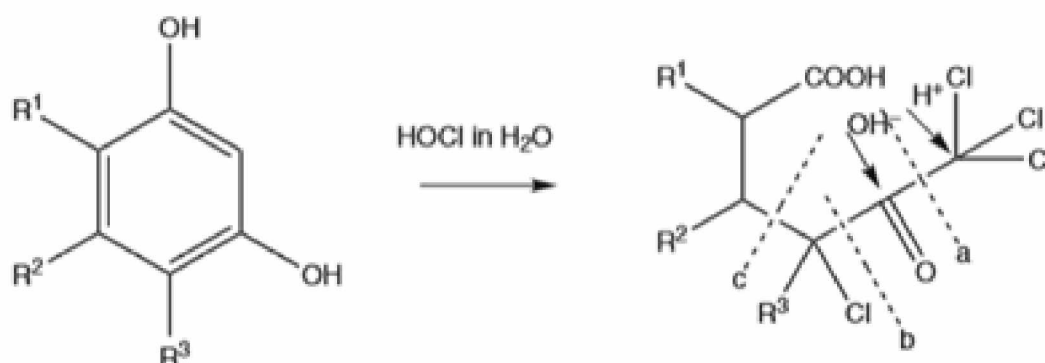
Εικόνα 25. Μόριο χουμικής ουσίας [52]

Ακόμα, τα φυσικά νερά περιέχουν σωματιδιακό οργανικό άνθρακα (Particulate Organic Carbon, POC), ο οποίος παράγεται από ζωικούς και φυτικούς οργανισμούς. Το άθροισμα διαλυμένου οργανικού άνθρακα και σωματιδιακού οργανικού άνθρακα αποτελεί τον ολικό οργανικό άνθρακα (Total Organic Carbon, TOC), του οποίου η συγκέντρωση συσχετίζεται με τη συγκέντρωση των παραπροϊόντων απολύμανσης [73, 74]. Η οργανική ύλη φυκών (Algal Organic Matter, AOM) και η οργανική ύλη λυμάτων (Wastewater Effluent Organic Matter, EfOM), αποτελούν πηγή οργανικού αζώτου. Επιπλέον, η απολύμανση του νερού με βιοκτόνα οδηγεί στην καταστροφή των κυττάρων, τα θραύσματα των οποίων περιέχουν διάφορα μακρομόρια και πρωτεΐνες. Τα αμινοξέα των πρωτεϊνών αποτελούν ένα σημαντικό μέρος του οργανικού αζώτου στο νερό, αυξάνοντας την περιεκτικότητά του. Η χλωρίωση αυτών μπορεί να οδηγήσει στη παραγωγή αλδεϋδών και νιτριλίων, τα οποία στη συνέχεια υδρολύονται προς σχηματισμό ένυδρης χλωράλης (chloral hydrate) και διχλωροακετονιτριλίων (dichloroacetonitrile) [66].



Εικόνα 26. Παράγοντες σχηματισμού παραπροϊόντων απολύμανσης [66, 75]

Για την κατανόηση του σχηματισμού των παραπροϊόντων απολύμανσης, πέραν της αλοφορμικής αντίδρασης, προτάθηκε από τον Rook ένας μηχανισμός σχηματισμού τριαλογονομεθανίων από μόρια τύπου ρεσορκινόλης. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, η οξειδωση τέτοιου μορίου από το υποχλωριώδες οξύ επιτρέπει την αλογόνωση του αρωματικού δακτυλίου, όπου η διάσπαση του μορίου στο σημείο *a* παράγει τριαλογονομεθάνια, η διάσπαση του μορίου στο σημείο *b* και την εισαγωγή ενός υδροξειδίου οδηγεί στην παραγωγή αλογονοξικών οξέων και, τέλος, η διάσπαση του μορίου στο σημείο *c* οδηγεί στη παραγωγή αλογονοακετόνων ^[76].



Εικόνα 27. Μηχανισμός σχηματισμού τριαλογονομεθανίων, αλογονοξικών οξέων και αλογονοακετόνων που προτάθηκε από τον Rook ^[76]

Άλλοι παράγοντες που επιδρούν στο σχηματισμό των παραπροϊόντων είναι η ποσότητα και το είδος του απολυμαντικού, ο χρόνος επαφής, η θερμοκρασία και το pH. Η αυξημένη ποσότητα απολυμαντικού οδηγεί σε ανάλογη αύξηση των παραπροϊόντων απολύμανσης ^[77, 78]. Ανάλογα με το είδος του απολυμαντικού μέσου, παράγονται και ορισμένες ομάδες ουσιών. Για παράδειγμα, η απολύμανση με όζον οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή βρωμικών, η απολύμανση με διοξείδιο του χλωρίου οδηγεί στην παραγωγή χλωρικών, ενώ ο συνδυασμός μεθόδων χρήσης όζοντος και ηλεκτροχλωρίωσης – αναλόγως και το υλικό των ηλεκτροδίων –, οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή βρωμικών και χλωρικών ^[79]. Ο χρόνος επαφής μπορεί αφενός να αυξήσει την παραγωγή ορισμένων ενώσεων και αφετέρου να προκαλέσει τη διάσπαση κάποιων άλλων, όπως για παράδειγμα τα αλογονοξικά οξέα και τα αλογονοακετονιτρίλια, πιθανότατα λόγω της υδρόλυσης τους. Η επιρροή του χρόνου επαφής εξαρτάται κυρίως από την κινητική των αντιδράσεων για τη δημιουργία παραπροϊόντων απολύμανσης ^[77, 80]. Η επίδραση του pH έχει δείξει πως παράγονται περισσότερα τριαλογονομεθάνια σε αλκαλικό περιβάλλον σε σχέση με άλλες ενώσεις, όπως είναι οι αλογονοακετόνες. Τέλος, η θερμοκρασία του νερού διαδραματίζει ρόλο στην ταχύτητα των αντιδράσεων σύνθεσης και διάσπασης των παραπροϊόντων απολύμανσης. Ακόμα, η εποχιακή διακύμανση των θερμοκρασιών του νερού ή οι θερμοκρασιακές διαφορές από περιοχή σε περιοχή, έχει δείξει διαφορές στις συγκεντρώσεις των παραπροϊόντων απολύμανσης, όπως για παράδειγμα στη συγκέντρωση των αλογονοξικών οξέων που τείνουν να είναι μεγαλύτερες σε θερμά νερά ^[52, 81, 82].

3.3.2. Ομάδες Παραπροϊόντων Απολύμανσης στο θαλάσσιο έρμα

Περισσότερες από 40 ουσίες έχουν βρεθεί στο επεξεργασμένο θαλάσσιο έρμα. Η τεχνική ομάδα GESAMP του IMO διατηρεί στοιχεία για τις ουσίες αυτές, για τις φυσικές και χημικές ιδιότητες τους, τις ιδιότητες τοξικότητας, καρκινογένεσης και οικοτοξικότητας. Τα παραπροϊόντα απολύμανσης που δημιουργούνται στο θαλάσσιο έρμα, ανάλογα με το μέσο χημικής απολύμανσης, είναι το διοξείδιο του χλωρίου (chlorine dioxide), τα χλωρικά ιόντα (chlorite ions), τα χλωριώδη ιόντα (chlorate ion), τα βρωμικά ιόντα (bromate ions), τα τριαλογονομεθάνια (trihalomethanes, THMs), τα αλογονοξικά οξέα (haloacetic acids, HAA) και τα αλογονοακετονιτρίλια (haloacetonitriles, HAN) ^[23, 83]. Άλλες ενώσεις που μπορούν να σχηματιστούν είναι οι αλογονοακετόνες (haloketones) και οι αλογονοαλδεΐδες (haloaldehydes), με πιο συχνή στο θαλάσσιο έρμα την ένυδρη χλωράλη ή αλλιώς τριχλωροακεταλδεΐδη (chloral hydrate/trichloroacetaldehyde, C₂H₃Cl₃O₂). Ακόμα, μπορεί να σχηματιστούν αλογονωμένες αμίνες, όπως η μονοχλωραμίνη (monochloramine, NH₂Cl) ως αποτέλεσμα αντίδρασης του υποχλωριώδους οξέως με το αμμώνιο ^[23]. Η EPA έχει συστήσει στην αναφορά Vessel Discharge Sample Collection & Analytical Monitoring τα παράγωγα των βιοκτόνων που μπορεί να δημιουργούνται και πρέπει να ελέγχονται, τα οποία φαίνονται στον Πίνακα 1 ^[84].

Πίνακας 1. Προσαρμοσμένος πίνακας με τα οξειδωτικά βιοκτόνα και τα παράγωγά τους που πρέπει να ελέγχονται μετά την απολύμανση του θαλάσσιου έρματος, σύμφωνα με την οδηγία της EPA ^[84]

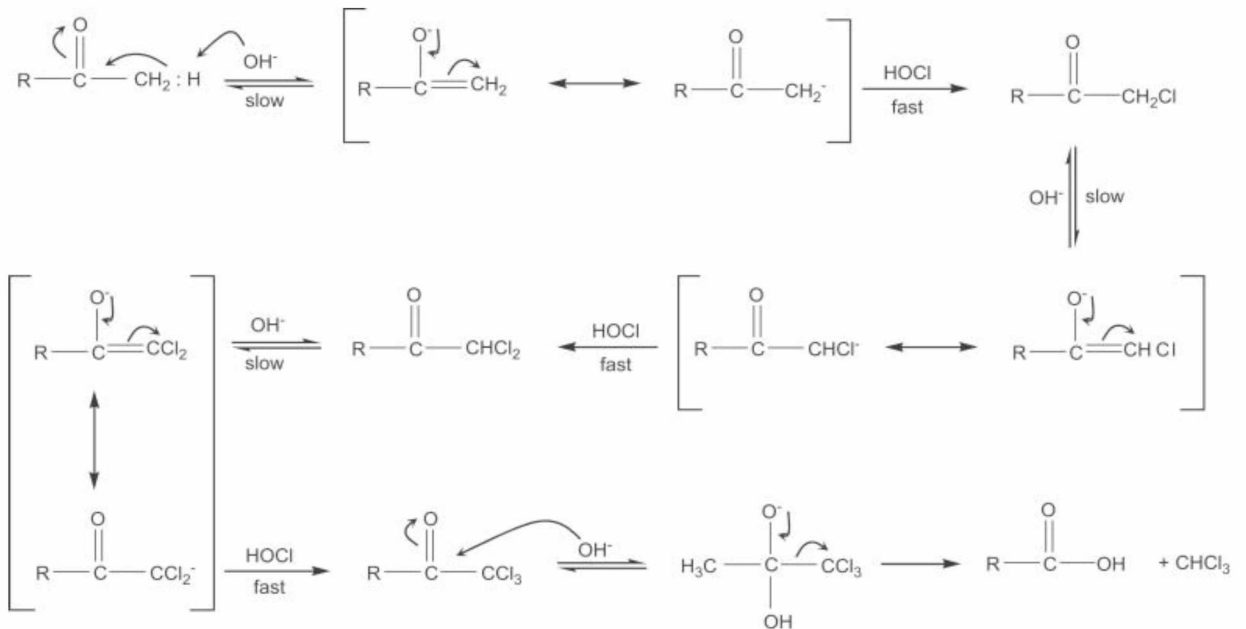
Οξειδωτικό βιοκτόνο	Παράμετροι ελέγχου
Χλωρίωση (αέριο χλώριο, υποχλωριώδες νάτριο, ηλεκτροχλωρίωση), διοξείδιο χλωρίου	Ολικό υπολειμματικό οξειδωτικό (TRO ως Cl ₂)
	Διοξείδιο του χλωρίου
	Χλωρικά ιόντα
	Χλωριώδη ιόντα
	Ολικά τριαλογονομεθάνια
	Αλογονοξικά οξέα
Όζον	Ολικό υπολειμματικό οξειδωτικό (TRO ως Cl ₂)
	Βρωμικά ιόντα
	Βρωμοφόρμιο
	Αλογονοξικά οξέα
Υπεροξικό οξύ	Ολικά τριαλογονομεθάνια
	Υπεροξικό οξύ
	Υπεροξειδίο υδρογόνου
	pH

Ολικά τριαλογονομεθάνια: η ομάδα περιλαμβάνει το σύνολο των συγκεντρώσεων των Tribromomethane, Trichloromethane, Bromodichloromethane, Chlorodibromomethane

Αλογονοξικά οξέα: η ομάδα περιλαμβάνει το σύνολο των συγκεντρώσεων των Monochloroacetic acid, Dichloroacetic acid, Trichloroacetic acid, Monobromoacetic acid, Dibromoacetic acid

Τριαλογονομεθάνια (Trihalomethanes, THMs)

Τα τριαλογονομένα παράγωγα του μεθανίου αποτέλεσαν την πρώτη ομάδα παραπροϊόντων απολύμανσης που προσδιορίστηκαν στο επεξεργασμένο πόσιμο νερό. Τα τριαλογονομεθάνια είναι μία ομάδα οργανικών πτητικών ενώσεων (Volatile Organic Compounds, VOCs), τα οποία σχηματίζονται κατά την αντίδραση του χλωρίου με τη φυσική οργανική ύλη. Είναι οι ουσίες στις οποίες τρία από τα τέσσερα άτομα υδρογόνου του μεθανίου (CH₄), αντικαθίστανται από κάποιο αλογόνο. Είναι οι κύριες ενώσεις που βρίσκονται ως παραπροϊόν απολύμανσης σε νερά και χαρακτηρίζονται ως περιβαλλοντικοί ρυπαντές, ενώ πολλά έχουν καθοριστεί ως καρκινογόνα. Τα τριαλογονομεθάνια που έχουν βρεθεί σε πόσιμο νερό και νερό έρματος είναι το τριβρωμομεθάνιο ή αλλιώς βρωμοφόρμιο (Tribromomethane/bromofom), το τριχλωρομεθάνιο ή χλωροφόρμιο (Trichloromethane/chloroform), το βρωμοδιχλωρομεθάνιο (Bromodichloromethane) και το χλωροδιβρωμομεθάνιο (Chlorodibromomethane) [23].



Εικόνα 28. Διάγραμμα αλοφορμικής αντίδρασης [85]

Αλογονοξικά οξέα (Haloacetic acids, HAAs)

Τα αλογονοξικά οξέα είναι σχετικά πολικές, μη-πτητικές και υδατοδιαλυτές ενώσεις, που ανιχνεύθηκαν το 1983 ως παραπροϊόντα απολύμανσης σε χλωριωμένο πόσιμο νερό. Ανήκουν στην ομάδα των οξικών οξέων και αποτελούνται από ένα καρβοξυλικό οξύ και μια ομάδα α-άνθρακα (alpha carbon), στην οποία ένα ή περισσότερα άτομα υδρογόνου αντικαθίστανται από ένα αλογόνο [55]. Τα αλογόνα που μπορεί να προκαλέσουν αυτήν την αντικατάσταση είναι το βρώμιο, το ιώδιο και το χλώριο, οδηγώντας στην παραγωγή μόνο/δι/τρι-αλογονοξικών οξέων ή αλογονοξικών οξέων αποτελούμενα από τον συνδυασμό των αλογόνων. Τα 5 κύρια αλογονοξικά οξέα (HAA₅) που έχουν παραμετρική τιμή σε οδηγίες του πόσιμου νερού είναι το μονοχλωροξικό οξύ (Monochloroacetic acid, C₂H₃ClO₂), το διχλωροξικό οξύ (Dichloroacetic acid, C₂H₂Cl₂O₂), το τριχλωροξικό οξύ (Trichloroacetic acid, C₂HCl₃O₂), το μονοβρωμικό οξύ (Monobromoacetic acid, C₂H₃BrO₂) και το διβρωμοχλωροξικό οξύ

(Dibromochloroacetic acid, $C_2HBr_2ClO_2$). Επιπλέον, αυτά που έχουν βρεθεί στο θαλάσσιο έρμα είναι ^[23]: το διβρωμοξικό οξύ (Dibromoacetic acid, $C_2H_2Br_2O_2$), το τριβρωμοξικό οξύ (Tribromoacetic acid, $C_2HBr_3O_2$), το βρωμοχλωροξικό οξύ (Bromochloroacetic acid, $C_2H_2BrClO_2$) και το διχλωροβρωμοξικό οξύ (Dichlorobromoacetic acid, $C_2HBrCl_2O_2$).

Ολικό υπολειμματικό οξειδωτικό (TRO ως Cl_2)

Ως ελεύθερο ή υπολειμματικό χλώριο χαρακτηρίζεται εκείνο το τμήμα του συνολικά υπάρχοντος ενεργού χλωρίου, το οποίο βρίσκεται σε μορφή υποχλωριώδους οξέος και υποχλωριώδων ιόντων. Η μέτρηση του υπολειμματικού οξειδωτικού, χρησιμοποιείται αφενός για την εξακρίβωση της απολύμανσης και αφετέρου για την παρακολούθηση της συγκέντρωσης του απολυμαντικού που απελευθερώνεται στο περιβάλλον ^[54]. Ο όρος ολικό υπολειμματικό οξειδωτικό περιλαμβάνει το διοξείδιο του χλωρίου, το υποχλωριώδες οξύ και το όζον και τα αποτελέσματα της μέτρησης δίνονται σε $mg Cl_2/L$ ^[23].

Διοξείδιο του χλωρίου

Μετά τη χρήση διοξειδίου του χλωρίου, ελέγχεται το υπολειπόμενο διοξείδιο του χλωρίου και οι συγκεντρώσεις των χλωρικών ιόντων και των χλωριωδών ιόντων που μπορεί να παραχθούν ως παραπροϊόντα απολύμανσης ^[86].

Αλογονοακετονιτρίλια (Haloacetonitriles, HAN)

Τα αλογονοακετονιτρίλια (Haloacetonitriles) αποτελούν μία ακόμα ομάδα ενώσεων που απαντώνται στο επεξεργασμένο θαλάσσιο έρμα. Είναι σχετικά πτητικές ενώσεις, που αποτελούνται από μια μεθυλομάδα (CH_3) και μια κυανομάδα (CN), στις οποίες ένα άτομο υδρογόνου αντικαθίστανται από κάποιο αλογόνο. Μπορούν να υδρολυθούν μέσω των αλογοναμίδων, σχηματίζοντας αλογονοξικά οξέα. Τα αλογονοακετονιτρίλια που έχουν βρεθεί στο θαλάσσιο έρμα είναι το βρωμοχλωροακετονιτρίλιο (Bromochloroacetonitrile, $C_2HBrClN$) με παραμετρική τιμή στο πόσιμο νερό $0,02 mg/L$, το διβρωμοακετονιτρίλιο (Dibromoacetonitrile, C_2HBr_2N) με παραμετρική τιμή στο πόσιμο νερό $0.07mg/L$, το διχλωροακετονιτρίλιο (Dichloroacetonitrile, C_2HCl_2N) με παραμετρική τιμή στο πόσιμο νερό $0.02mg/L$, το μονοβρωμοακετονιτρίλιο (Monobromoacetonitrile, C_2H_2BrN), το μονοχλωροακετονιτρίλιο (Monochloroacetonitrile, C_2H_2ClN) και το τριχλωροακετονιτρίλιο (Trichloroacetonitrile, C_2Cl_3N) ^[23].

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO), καθώς και η Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών (US-EPA), έχουν θεσπίσει παραμετρικές τιμές για πλήθος ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων και των παραπροϊόντων απολύμανσης που μπορεί να βρίσκονται στο πόσιμο νερό.

Πίνακας 2 Παραμετρικές τιμές παραπροϊόντων απολύμανσης στο πόσιμο νερό σύμφωνα με τους οργανισμούςWHO^[86] και USEPA^[87]

Ένωση	Παραμετρικές τιμές πόσιμου νερού (mg/L)	
	WHO	USEPA*
TotalTrihalomethanes		0.08
Bromodichloromethane	0.06	
Chlorodibromomethane	0.1	
Bromoform	0.1	
Chloroform	0.3	
Haloacetic acids		0.06 ^b
Dichloroacetic acid	0.05	
Monochloroacetic acid	0.02	
Trichloroacetic acid	0.2	
Dibromoacetic acid	0.05 ^a	
Tribromoacetic acid	0.2 ^a	
Monobromoacetic acid	0.02 ^a	
Dibromochloroacetic acid	0.2 ^a	
Bromochloroacetic acid	-	
Dichlorobromoacetic acid	-	
Άλλες ενώσεις		
Bromate	0.01	0.01
Chlorate	0.7	-
Chlorite	0.7	1.0
Chlorine	5.0	4.0
Chlorinedioxide		0.8 ^c
Dalapon (2,2-Dichloropropionic acid)		0.2
1,1,1-Trichloroethane		0.2
Carbon tetrachloride	0.004	0.005
Trichloroethene	0.02	
Tetrachloroethene	0.04	
1,2-Dibromoethane	0.0004	
1,2-Dibromo-3-Chloropropane	0.001	0.0002

a:τιμές από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Χημικών (European Chemicals Agency, ECHA)^[88, 89]

b:η τιμή αναφέρεται στο σύλλογο των συγκεντρώσεων του μονοχλωροξικού οξέος, του διχλωροξικού οξέος, του τριχλωροξικού οξέος, του μονοβρωμικού οξέος και του διβρωμοχλωροξικού οξέος

c:η τιμή αναφέρεται στη συγκέντρωση διοξειδίου του χλωρίου ως υπολειμματικό οξειδωτικό ClO₂

*:Maximum Contaminant Level (MCL) ανώτερη συγκέντρωση που μπορεί να βρίσκεται στο πόσιμο νερό^[87]

3.3.3. Επιπτώσεις ενεργών ουσιών και παραπροϊόντων απολύμανσης στην ανθρώπινη υγεία

Από το 1974, που ανακαλύφθηκαν τα πρώτα παραπροϊόντα απολύμανσης από την χλωρίωση του πόσιμου νερού, διεξήχθη πλήθος τοξικολογικών μελετών για την επίδρασή τους στην υγεία του ανθρώπου. Το χλωριωμένο νερό ανήκει στη κατηγορία 3 κατά IARC, δηλαδή δεν έχει κατηγοριοποιηθεί ως καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Παρόλα αυτά, τα απολυμαντικά μέσα που χρησιμοποιούνται και ορισμένα από τα παραπροϊόντα απολύμανσης, έχουν χρησιμοποιηθεί σε βιομηχανίες και η έκθεση σε αυτά ενέχει κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία. Οι ενώσεις στις οποίες εκτίθεται ένα άτομο, ακολουθούν συγκεκριμένα μεταβολικά μονοπάτια στον οργανισμό και μπορούν να ανιχνευθούν ποσότητες αυτών ή προϊόντα μεταβολισμού τους σε βιολογικά υγρά όπως είναι το αίμα, τα ούρα και ο εκπνεόμενος αέρας, αποτελώντας ένα χρήσιμο εργαλείο για την βιοπαρακολούθηση (biomonitoring) της περιβαλλοντικής έκθεσης. Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι πολλά από αυτά τα παραπροϊόντα είναι υπεύθυνα για νευροτοξικότητα, ηπατοτοξικότητα, νεφροτοξικότητα και αναπαραγωγική τοξικότητα, ενώ για ορισμένες ομάδες ουσιών, έρευνες έχουν δείξει αυξημένη συσχέτιση για διάφορους τύπους καρκίνου ^[83, 90].

Η έκθεση του ανθρώπου σε αυτές τις ενώσεις μέσω του χλωριωμένου νερού, διαχωρίζεται σε τρεις κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει την έκθεση μέσω της εισπνοής, που μπορεί να γίνει μέσω των υδρατμών από τους καταιωνηστήρες, στον χώρο που βρίσκεται μια πισίνα, σε χώρους υδρομάλαξης και σε σημεία που απελευθερώνεται χλωριωμένο νερό. Η δεύτερη κατηγορία εντοπίζεται στην έκθεση μέσω κατάποσης, είτε άμεσα λόγω κατανάλωσης χλωριωμένου νερού είτε έμμεσα μέσω των τροφίμων που έχουν μαγειρευτεί με χλωριωμένο πόσιμο νερό. Στην τρίτη κατηγορία συγκαταλέγεται η δερματική έκθεση, είτε από τους καταιωνηστήρες και τις κολυμβητικές δεξαμενές είτε άμεσα στους εργαζομένους κατά τη διαδικασία της χλωρίωσης ^[91, 92].

Η κατηγοριοποίηση των ουσιών σε καρκινογόνες ή μη, γίνεται από τη Διεθνή Υπηρεσία Έρευνας για τον Καρκίνο (International Agency for Research on Cancer, IARC) και από το Εθνικό Τοξικολογικό Πρόγραμμα των Ηνωμένων Πολιτειών (U.S. National Toxicology Program, NTP). Αυτοί οι δύο Οργανισμοί διατηρούν ανεξάρτητη δράση και κατηγοριοποιούν τις ουσίες με διαφορετικό τρόπο. Το Εθνικό Τοξικολογικό Πρόγραμμα των Ηνωμένων Πολιτειών διαχωρίζει τις ουσίες σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν ουσίες που είναι αποδεδειγμένο ότι προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο, ενώ στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν ουσίες που αναμένεται να είναι καρκινογόνα για τον άνθρωπο ^[93]. Η Διεθνής Υπηρεσία Έρευνας για τον Καρκίνο, έχει αξιολογήσει περισσότερες από 1.000 πιθανές καρκινογόνες ουσίες και τις έχει κατατάξει στις εξής ομάδες ^[94]:

- Group 1: περιλαμβάνει ουσίες που είναι αποδεδειγμένο ότι προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο—υπάρχουν επαρκή στοιχεία ότι προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο και στα ζώα

- Group 2A: ουσίες που είναι πιθανό να προκαλέσουν καρκίνο στον άνθρωπο – υπάρχουν επαρκή στοιχεία ότι προκαλούν καρκίνο σε ζώα και περιορισμένα στοιχεία ότι προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο
- Group 2B: ουσίες που πιθανώς προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο – υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία πρόκλησης καρκίνου στον άνθρωπο και επαρκή στοιχεία για καρκίνο σε ζώα
- Group 3: ουσίες που δεν έχουν κατηγοριοποιηθεί ως πιθανό καρκινογόνο– ανεπαρκή στοιχεία για καρκίνο σε ανθρώπους και ζώα
- Group 4: ουσίες μη καρκινογόνες –επαρκή στοιχεία ότι δεν προκαλούν καρκίνο

Το νερό έρματος που απορρίπτεται μετά από την επεξεργασία του, περιέχει συγκεντρώσεις υπολειμματικού οξειδωτικού και των παραπροϊόντων του, τα οποία μπορεί να επηρεάσουν το θαλάσσιο περιβάλλον, αλλά και την ανθρώπινη υγεία. Για το λόγο αυτό, είναι σημαντικό να γίνεται έλεγχος των συγκεντρώσεων των παραμέτρων που απορρίπτονται, καθώς και εκτίμηση κινδύνου (risk assessment) για τις επιπτώσεις που μπορεί να προκληθούν. Οι κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες: τους κινδύνους από την οξεία έκθεση στις ουσίες του προσωπικού των πλοίων ή των λιμένων και στις μακροχρόνιες επιδράσεις αυτών και των παραπροϊόντων τους, που σχετίζονται είτε με την επαγγελματική είτε με την περιβαλλοντική έκθεση ^[83].

Το πλήρωμα των πλοίων και των λιμένων είναι δυνατό να εκτεθεί στις ουσίες που χρησιμοποιούνται για την απολύμανση, αλλά και τα παραπροϊόντα τους, κατά τη διάρκεια της εργασίας τους, μέσω της εισπνοής ή της επαφής με το δέρμα. Ο εφοδιασμός του συστήματος διαχείρισης θαλάσσιου έρματος με χημικά, η διαδικασία του αφερματισμού, η δειγματοληψία του επεξεργασμένου θαλάσσιου έρματος, ο καθαρισμός και η επιθεώρηση των δεξαμενών έρματος, αποτελούν λειτουργικές διαδικασίες του προσωπικού, που ενέχουν τον κίνδυνο έκθεσης στις ουσίες αυτές. Ακόμα, η έκθεση στο προσωπικό είναι πιθανό να συμβαίνει κατά τη διάρκεια του ταξιδιού μετά την διαδικασία απολύμανσης, μέσω τις εισπνοής του αέρα που απελευθερώνεται από τις δεξαμενές ^[23].

Ένας ακόμα κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία, είναι η έκθεση των κολυμβητών στο επεξεργασμένο νερό έρματος μέσω της εισπνοής, της κατάποσης και μέσω του δέρματος, όταν ο ερματισμός γίνεται σε λιμάνια κοντά σε παράκτιες περιοχές. Παρόλο που το ποσοστό έκθεσης του γενικού πληθυσμού στο επεξεργασμένο θαλάσσιο ερμα είναι μικρότερο σε σχέση με το νερό ανθρώπινης κατανάλωσης, η συγκέντρωση ορισμένων παραπροϊόντων απολύμανσης, όπως είναι τα βρωμιωμένα παραπροϊόντα, είναι μεγαλύτερη, καθώς υπάρχει μεγαλύτερη συγκέντρωση βρωμίου στο θαλασσινό νερό. Οι ουσίες που παράγονται είναι κατά κύριο λόγο πτητικές και υπάρχει η πιθανότητα να δημιουργηθούν αερολύματα, τα οποία μπορεί να μεταφερθούν με τον αέρα σε μια άλλη περιοχή, αυξάνοντας τις συγκεντρώσεις των ουσιών αυτών στην ατμόσφαιρα. Τέλος, κάποιες ουσίες έχουν την ικανότητα να βιο-συσσωρεύονται στους υδρόβιους οργανισμούς –κυρίως στο λιπώδη ιστό – να εισάγονται στην τροφική αλυσίδα και να περνούν στην ανθρώπινη κατανάλωση, προκαλώντας προβλήματα τοξικότητας ^[22, 83, 95, 96].

Τριαλογονομεθάνια

- Τριβρωμομεθάνιο/Βρωμοφόρμιο (Tribromomethane/bromoform, CHBr₃)
Είναι αυτό που συναντάται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο νερό έρματος και είναι το λιγότερο πτητικό από τα THM ^[23]. Είναι ερεθιστικό, προκαλεί οξεία τοξικότητα και αποτελεί περιβαλλοντικό κίνδυνο. Οι κύριες οδοί έκθεσης στον άνθρωπο είναι μέσω της κατάποσης νερού που έχει απολυμανθεί με χλώριο ή ενώσεις βρωμίου, καθώς και μέσω της εισπνοής περιβάλλοντος αέρα σε περιοχές που χρησιμοποιείται ή απελευθερώνεται βρωμοφόρμιο ^[97]. Η εισπνοή ή κατάποση υψηλών επιπέδων βρωμοφορμίου σε ανθρώπους, έχει ως επιπτώσεις την επιβράδυνση των λειτουργιών του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), καθώς και ερεθισμό των οφθαλμών και του αναπνευστικού συστήματος ^[57]. Μακροχρόνια έκθεση σε βρωμοφόρμιο έχει ως επίπτωση την πρόκληση βλαβών στο ήπαρ και τους νεφρούς ^[57, 97]. Μελέτες σε πειραματόζωα μετά από χορήγηση βρωμοφορμίου, έδειξαν πρόκληση αδενοκαρκίνου και αδеноματώδεις πολύποδες του παχέος εντέρου. Επιπλέον, μελέτες έδειξαν ότι προκλήθηκε στα πειραματόζωα καρκίνος του ήπατος, των νεφρών και μειωμένη απάντηση ανοσιακού συστήματος. Τα στοιχεία αυτά είναι περιορισμένα και υπάρχουν ανεπαρκή στοιχεία για την πρόκληση καρκίνου στον άνθρωπο. Για το λόγο αυτό, το βρωμοφόρμιο έχει ταξινομηθεί στην ομάδα 3 κατά IARC ^[98].
- Τριχλωρομεθάνιο/ χλωροφόρμιο (Trichloromethane/ chloroform, CHCl₃)
Είναι περισσότερο πτητικό από τα υπόλοιπα THMs ^[99]. Οδοί έκθεσης αποτελούν η κατάποση, η εισπνοή και η επαφή μέσω του δέρματος. Έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις οδηγεί σε κυτταροτοξικότητα και ενδογενή υπερπλασία ορισμένων οργάνων. Η οξεία έκθεση σε χλωροφόρμιο προκαλεί καρδιακή αρρυθμία και δυσλειτουργία του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος. Η χρόνια έκθεση σε χλωροφόρμιο έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση της ηπατικής λειτουργίας, πρόκληση ίκτερου, εξασθένηση της νεφρικής λειτουργίας και ευερεθιστότητα του ΚΝΣ ^[57, 100]. Το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού εκτίθεται σε χλωροφόρμιο μέσω του πόσιμου νερού. Μελέτες σειράς για τη συσχέτιση μεταξύ της ποιότητας του πόσιμου ύδατος και καρκίνου, έδειξαν αυξημένη θνητότητα από καρκίνο του ήπατος και καρκίνο του μαστού σε συσχέτιση με την κατανάλωση χλωριωμένου νερού. Άλλες μελέτες σειράς, έδειξαν αυξημένη επικινδυνότητα για την πρόκληση καρκίνου παχέος εντέρου, πνεύμονα και δέρματος (μελάνωμα) σε σχέση με τις συγκεντρώσεις του χλωροφορμίου στο νερό. Πειραματικές μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν πρόκληση καρκίνου των νεφρών και του ήπατος μετά τη χορήγηση χλωροφορμίου από του στόματος και μέσω της εισπνοής. Για το λόγο αυτό, το χλωροφόρμιο κατηγοριοποιείται κατά IARC στη ομάδα 2B, ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Μελέτες in vivo έδειξαν ότι το μεγαλύτερο μέρος του χλωροφορμίου μεταβολίζεται μέσω του οξειδωτικού μεταβολισμού, με τη συμμετοχή του ενζύμου CYP2E1 (Cytochrome P450 2E1) και τελικό προϊόν διοξείδιο του άνθρακα ^[94].

- Βρωμοδιχλωρομεθάνιο(Bromodichloromethane,CHBrCl₂)
Είναι ερεθιστικό, αποτελεί κίνδυνο για την υγεία και κατατάσσεται στην κατηγορία 2B κατά IARC, ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Την κύρια οδό έκθεσης αποτελεί η κατάποση. Μελέτες σε πειραματόζωα μετά τη χορήγηση βρωμοδιχλωρομεθανίου έδειξαν πρόκληση καρκίνου των νεφρών, του παχέος εντέρου και του ήπατος. Τα συμπτώματα από την οξεία έκθεση στον άνθρωπο, περιλαμβάνουν ερεθισμό στους οφθαλμούς, στο δέρμα και στο αναπνευστικό σύστημα. Η μακροχρόνια έκθεση σε διχλωροβρωμομεθάνιο έχει επιπτώσεις στη λειτουργία του ήπατος και των νεφρών ^[57, 97]. Μελέτες σε αρουραίους έδειξαν ότι μετά τη χορήγηση 150–300 mg/kg bw ανά ημέρα για 5 συνεχόμενες μέρες, αυξήθηκαν η κρεατινίνη ορού και η ουρία αίματος ως ένδειξη βλάβης στη νεφρική λειτουργία. Επιπλέον μελέτες έδειξαν ιστοπαθολογικές βλάβες του ήπατος σε αρουραίους και ορισμένες αναπαραγωγικές βλάβες όπως μείωση της ταχύτητας του επιδιδυμικού σπέρματος ^[98].
- Διβρωμοχλωρομεθάνιο (Chlorodibromomethane,CHBr₂Cl)
Έχει χρησιμοποιηθεί ως ενδιάμεσο προϊόν για την παρασκευή πυροσβεστικών μέσων, ψυκτικών αερολυμάτων και φυτοφαρμάκων. Θεωρείται αρκετά ερεθιστικό και έχει κατηγοριοποιηθεί στην ομάδα 3 κατά IARC. Προκαλεί βλάβες στο κεντρικό νευρικό σύστημα, ενώ οξεία έκθεση σε διβρωμοχλωρομεθάνιο προκαλεί αύξηση των επιπέδων μεθαιμοσφαιρίνης στο αίμα ^[57]. Μελέτες in vivo και in vitro σε πειραματόζωα έδειξαν ότι μεταβολίζεται σε μονοξειδίο του άνθρακα, ενώ δεν υπήρχαν αρκετά στοιχεία για την αύξηση της επίπτωσης καρκίνου σε πειραματόζωα ^[101].

Αλογονοξικά οξέα

- Μονοχλωροξικό οξύ (Monochloroacetic acid, C₂H₃ClO₂)
Το μονοχλωροξικό οξύ είναι διαβρωτικό για το δέρμα, τους οφθαλμούς και τους βλεννογόνους. Προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις στις λειτουργίες του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), της καρδιάς, του αναπνευστικού συστήματος και στη νεφρική λειτουργία. Έχει βρεθεί ότι το μεγαλύτερο μέρος του μονοχλωροξικού οξέως απεκκρίνεται στα ούρα χωρίς να μεταβολίζεται, ενώ ένα μικρό μέρος του απεκκρίνεται μέσω του εκπνεόμενου αέρα ως διοξείδιο του άνθρακα. Άλλοι μεταβολίτες του, όπως το γλυκολικό οξύ και τα οξαλικά οξέα, μπορεί να προκαλέσουν τοξικότητα στους νεφρούς και στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα. Το μονοχλωροξικό οξύ μπορεί να έχει επίδραση στο μεταβολισμό, καθώς μελέτες in vitro έδειξαν ότι μειώνει την παραγωγή της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και την πρωτεϊνσύνθεση. Οι επιδράσεις από την μακροχρόνια ή επαναλαμβανόμενη έκθεση σε μονοχλωροξικό οξύ αφορούν σε προβλήματα στους πνεύμονες ^[97].

- Διχλωροξικό οξύ (Dichloroacetic acid, C₂H₂Cl₂O₂)
 Το διχλωροξικό οξύ κατατάσσεται στην ομάδα 2B κατά IARC ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Έχει βρεθεί ότι έχει παρόμοιο χρόνο ημιζώης στο πλάσμα ανθρώπου και πειραματόζωων. Το διχλωροξικό οξύ μεταβολίζεται σε γλυοξυλικό οξύ, κυρίως μέσω του ενζύμου γλουταθειόνη S-τρανσφεράση zeta 1 (GST-zeta1) –πολυμορφικό ένζυμο, υπεύθυνο για την αποτοξίνωση του οργανισμού και τον καταβολισμό τυροσίνης και φαινυλαλανίνης –, ενώ παράλληλα λειτούργησε στα πειραματόζωα ως ανασταλτικός παράγοντας αυτού του ενζύμου. Το γλυοξυλικό μετατρέπεται μέσω της γαλακτικής αφυδρογονάσης σε οξαλικό οξύ, το οποίο απεκκρίνεται στα ούρα. Επηρεάζει το νευρικό σύστημα και τους νεφρούς –και σε μεγαλύτερο βαθμό το ήπαρ προκαλώντας ηπατοκυτταρικό καρκίνο^[102].
- Τριχλωροξικό οξύ (Trichloroacetic acid, C₂HCl₃O₂)
 Αποτελεί παραπροϊόν απολύμανσης ενώ επιπλέον έχει χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης επαγγελματικής και περιβαλλοντικής έκθεσης σε τριχλωροξικό οξύ, αλλά και σε τριχλωροαιθυλενίο, τετραχλωροαιθυλενίο, 1,1,1-τριχλωροαιθάνιο και ένυδρη χλωράλη, καθώς είναι τελικός μεταβολίτης αυτών στον ανθρώπινο οργανισμό. Συγκεντρώσεις τριχλωροξικού οξέως έως 0,2 μg/L έχουν ανιχνευθεί σε σπόρους σιταριού και βρώμης, μετά τη χρήση του ως ζιζανιοκτόνο σε αγρούς. Έχει ταξινομηθεί στην ομάδα 2B κατά IARC, ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Απορροφάται εύκολα μέσω του δέρματος και μέσω της κατάποσης, μεταβολίζεται αργά και απεκκρίνεται καθ' αυτό στα ούρα, ενώ μετά από συνεχείς εκθέσεις έχει την ιδιότητα να συσσωρεύεται στον οργανισμό. Αποτελεί υπεργλυκαιμικό παράγοντα, καθώς επάγει τη συσσώρευση γλυκογόνου και είναι πιθανό να προκαλέσει καρκίνο στους νεφρούς και ηπατοκυτταρικό καρκίνο^[102].
- Μονοβρωμοξικό οξύ (Monobromoacetic acid, C₂H₃BrO₂)
 Σε in vitro μελέτες ανθρώπινων κυττάρων, το μονοβρωμοξικό οξύ φάνηκε να προκαλεί αλλαγές σε γονίδια που είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση του DNA και στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου^[57].
- Διβρωμοξικό οξύ (Dibromoacetic acid, C₂H₂Br₂O₂)
 Έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις διβρωμοξικού οξέος επηρεάζουν κυρίως το αναπνευστικό σύστημα, προκαλώντας πνευμονικό οίδημα^[57]. Μελέτες σε ποντίκια έδειξαν αύξηση της επίπτωσης ηπατοκυτταρικού καρκίνου σε αρσενικά ποντίκια, αδένωμα του ήπατος, των κυψελίδων και των βρογχιολίων, τόσο σε θηλυκά όσο και αρσενικά ποντίκια. Έρευνες σε αρσενικούς και θηλυκούς αρουραίους, μετά τη χορήγηση διβρωμοξικού οξέως, έδειξαν αύξηση της επίπτωσης μεσοθηλιώματος και μονοκυτταρική λευχαιμία αντίστοιχα. Οι τύποι όγκων που προκλήθηκαν στους αρουραίους μετά την έκθεση στο διβρωμοξικό οξύ θεωρούνται σπάνιοι για τα πειραματόζωα και η ένωση ταξινομήθηκε στην ομάδα 2B κατά IARC, ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο^[103].
- Τριβρωμοξικό οξύ (Tribromoacetic acid, C₂HBr₃O₂)
 Σύμφωνα με το Εθνικό Τοξικολογικό Πρόγραμμα των Η.Π.Α. (NTP), το τριβρωμοξικό οξύ αναμένεται να είναι καρκινογόνο για τον άνθρωπο, καθώς

μελέτες έδειξαν ότι μεταβολίζεται σε διβρωμοξικό οξύ, το οποίο με τη σειρά του μπορεί να προκαλέσει καρκίνο σε πειραματόζωα ^[75].

- Βρωμοχλωροξικό οξύ (Bromochloroacetic acid, C₂H₂BrClO₂)
Είναι εξαιρετικά ερεθιστικό για τους βλεννογόνους και το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα ^[57]. Χορήγηση βρωμοχλωροξικού οξέως προκάλεσε ηπατοβλαστώματα σε αρσενικά ποντίκια, ηπατοκυτταρικό αδένωμα και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα σε αρσενικά και θυληκά. Σε μελέτες με αρσενικούς αρουραίους, η χορήγηση βρωμοχλωροξικού οξέως έδειξε αυξημένη επίπτωση μεσοθηλιώματος και αδενώματος των παγκρεατικών νησίδων και αδένωμα παχέος εντέρου στα δύο φύλα. Οι τύποι όγκων που δημιουργήθηκαν στους αρουραίους θεωρούνται σπάνιοι σε πειραματόζωα και η ένωση κατατάχθηκε στη ομάδα 2B κατά IARC, ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο ^[103].
- Διχλωροβρωμοξικό οξύ (Dichlorobromoacetic acid, C₂HBrCl₂O₂) & Διβρωμοχλωροξικό οξύ (Dibromochloroacetic acid, C₂HBr₂ClO₂)
Η έκθεση σε διχλωροβρωμοξικό οξύ και σε διβρωμοχλωροξικό οξύ μέσω της εισπνοής μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονή των βρόγχων, του λάρυγγα, και πνευμονικό οίδημα. Είναι εξαιρετικά καταστρεπτικά για τους βλεννογόνους και το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα, για τα μάτια και το δέρμα ^[57]. Σύμφωνα με το Εθνικό Τοξικολογικό Πρόγραμμα των Η.Π.Α. (NTP), το διβρωμοχλωροξικό οξύ αναμένεται να είναι καρκινογόνο για τον άνθρωπο, καθώς μελέτες έδειξαν ότι μεταβολίζεται σε βρωμοχλωροξικό οξύ, το οποίο προκαλεί καρκίνο σε πειραματόζωα ^[75].

Αλογονοακετονιτρίλια

- Βρωμοχλωροακετονιτρίλιο (Bromochloroacetonitrile, C₂HBrClN)
Σε έρευνες με πειραματόζωα, παρατηρήθηκε μικρή αύξηση επίπτωσης καρκίνου του πνεύμονα και άλλων όγκων, μετά τη χορήγηση βρωμοχλωροακετονιτρίλιου από του στόματος. Πειράματα για την κινητική του βρωμοχλωροακετονιτρίλιου έδειξαν ότι ένα μικρό μέρος απεκκρίνεται με τα ούρα ως θειοκυανικό. Επίσης, εμβολιασμός βρωμοδιχλωροακετονιτρίλιου σε κυτταροκαλλέργειες θηλαστικών προκάλεσε προβλήματα στην ανταλλαγή μεταξύ αδελφών χρωματίδων και στο διαχωρισμό του DNA. Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν ανεπαρκή για την κατηγοριοποίηση της ένωσης ως καρκινογόνο για τα ζώα, ενώ δεν υπάρχουν επιδημιολογικά δεδομένα για τον άνθρωπο. Για το λόγο αυτό, κατηγοριοποιήθηκε στην ομάδα 3 κατά IARC ^[98].
- Διβρωμοακετονιτρίλιο (Dibromoacetonitrile, C₂HBr₂N)
Οι πειραματικές μελέτες που διεξήχθησαν σε πειραματόζωα, αρχικά δεν έδειξαν συσχέτιση πρόκλησης καρκίνου με τη χρήση διβρωμοακετονιτρίλιου. Με νεότερα δεδομένα, το 2013, έρευνες σε πειραματόζωα έδειξαν αυξημένη επίπτωση καρκίνου των πλακωδών κυττάρων του στομάχου και αδενικό καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας σε πειραματόζωα – είδη καρκίνου που θεωρούνται σπάνια σε πειραματόζωα – και η ένωση κατατάχθηκε στην κατηγορία 2B κατά IARC ^[98, 103].

- Διχλωροακετονιτρίλιο (Dichloroacetonitrile, C₂HCl₂N)
Μειωμένο σωματικό βάρος και χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα παρατηρήθηκαν μετά τη χορήγηση 65 mg/kg bw ανά ημέρα για διάστημα 90 ημερών σε αρουραίους. Χορήγηση 45 mg/kg bw την ημέρα κατά τη διάρκεια εγκυμοσύνης (6-18 ημέρες) έδειξε στα έμβρυα αρουραίων αυξημένη συσχέτιση δυσπλασιών σκελετικού, καρδιαγγειακού και ουρογεννητικού συστήματος. Επιδημιολογικά δεδομένα για τη καρκινογόνο δράση της ένωσης στον άνθρωπο δεν υπάρχουν και για το λόγο αυτό εντάχθηκε στην κατηγορία 3 κατά IARC ^[98].
- Μονοχλωροακετονιτρίλιο (Chloroacetonitrile, C₂H₂ClN)
Μελέτες ανίχνευσης διαλογής για πνευμονικούς όγκους σε ποντίκια έδειξαν ότι, μετά τη στοματική χορήγηση μονοχλωροακετονιτρίλιου, αυξήθηκε η αναλογία των ποντικών με καρκίνο του πνεύμονα. Επιδημιολογικά δεδομένα για τη καρκινογόνο δράση της ένωσης στον άνθρωπο δεν υπάρχουν και για το λόγο αυτό εντάχθηκε στην κατηγορία 3 κατά IARC ^[98].
- Μονοβρωμοακετονιτρίλιο (Monobromoacetonitrile, C₂H₂BrN)
Η έκθεση σε βρωμοακετονιτρίλιο προκαλεί ερεθισμό στους οφθαλμούς, τους βλεννογόνους, το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα και είναι αρκετά διαβρωτικό για το δέρμα ^[57].
- Τριχλωροακετονιτρίλιο (Trichloroacetonitrile, C₂Cl₃N)
Σε ανίχνευση διαλογής για όγκους πνευμόνων σε πειραματόζωα, παρατηρήθηκε ότι μετά τη στοματική χορήγηση τριχλωροακετονιτρίλιου αυξήθηκε η αναλογία των ποντικών με καρκίνο του πνεύμονα. Επιδημιολογικά δεδομένα για την καρκινογόνο δράση της ένωσης στον άνθρωπο δεν υπάρχουν και για το λόγο αυτό εντάχθηκε στην κατηγορία 3 κατά IARC ^[98,101].

Διοξείδιο του Χλωρίου (ChlorineDioxide)

Η οξεία έκθεση στο διοξείδιο του χλωρίου μέσω της αναπνοής προκαλεί ερεθισμό των οφθαλμών, του δέρματος και του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, ενώ ακόμα μπορεί να προκαλέσει πνευμονικό οίδημα. Η χρόνια ή επαναλαμβανόμενη έκθεση έχει επιπτώσεις στη λειτουργία των πνευμόνων, οδηγώντας σε χρόνια βρογχίτιδα ^[97]. Η στοματική χορήγηση διοξειδίου του χλωρίου σε πιθήκους έδειξε πως μεταβολίζεται σε ιόντα χλωρίου και σε μικρότερο βαθμό σε χλωριώδη και χλωρικά ιόντα. Σε μελέτες με θηλυκούς αρουραίους που εκτέθηκαν σε διοξείδιο του χλωρίου μέσω του πόσιμου νερού, παρατηρήθηκε μείωση της ελεύθερης θυροξίνης – ορμόνη που παράγεται στο θυρεοειδή αδένια, συμμετέχει στο βασικό μεταβολικό ρυθμό και διεγείρει την παραγωγή της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης – ^[104].

Χλωριώδη Ιόντα (Chlorite Ion)

Τα χλωριώδη ιόντα απορροφώνται γρήγορα από το πλάσμα και κατανέμονται σε όλο τον οργανισμό. Η αποσύνθεση τους γίνεται κατά κύριο λόγο μέσω οξειδο-αναγωγικών αντιδράσεων της σιέλου και των γαστρικών οξέων. Η έκθεση στο χλωριώδες ιόν προκαλεί κυρίως προβλήματα στο αιμοποιητικό σύστημα. Σε μικρές συγκεντρώσεις μπορεί να προκαλέσει αναιμία, γεγονός που μπορεί να οφείλεται είτε στη μείωση της γλουταθειόνης είτε στην ικανότητα των χλωριωδών ιόντων να καταστρέφουν την κυτταρική μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων ^[104]. Σε υψηλές συγκεντρώσεις

οξειδώνει την αιμοσφαιρίνη, με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή μεθαιμοσφαιρίνης [105].

Χλωρικά Ιόντα (Chlorate Ion)

Τα χλωρικά ιόντα έχουν παρόμοια δράση με τα χλωριώδη ιόντα στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Επιπλέον όμως, πειραματικές μελέτες με αρουραίους έδειξαν ότι τα χλωρικά ιόντα προκαλούν βλάβες στον θυρεοειδή αδένα και στις θυρεοειδικές ορμόνες. Τέτοιες βλάβες αφορούν αλλαγές στην ιστολογική δομή του θυρεοειδούς, υπερτροφία και διάφορες υπερπλασίες του αδένα, που οφείλονται σε χαμηλά επίπεδα θυρεοειδικών ορμονών στο πλάσμα αίματος –πιθανόν λόγο του ανταγωνισμού των χλωρικών ιόντων με το ιώδιο –, η οποία με τη σειρά της πυροδοτεί τη συνεχή διέγερση του αδένα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή επιπλέον ορμονών και κυττάρων που οδηγούν σε υπερπλασίες [104].

Βρωμικά Ιόντα (Bromate Ion)

Η οξεία έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις έχει βρεθεί ότι προκαλεί ναυτία, διαρροϊκά επεισόδια, κοιλιακό άλγος και νεφρική δυσλειτουργία, ενώ μπορεί να προκαλέσει και μη αναστρέψιμη απώλεια ακοής [57, 100]. Το βρωμικό ιόν απορροφάται από το γαστρεντερικό σωλήνα και κατανέμεται κυρίως στο λιπώδη ιστό. Μεταβολίζεται κατά ένα μέρος σε βρωμίδιο – πιθανόν μέσω της γλουταθειόνης – και απεκκρίνεται κυρίως στα ούρα. Χορήγηση βρωμικού (συγκέντρωσης 270 και 540 mg βρωμικού ανά kg σωματικού βάρους ανά ημέρα) σε αρσενικά ποντίκια μέσω πόσιμου νερού για 2 εβδομάδες, έδειξαν αύξηση των επιπέδων της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP), της γ-γλουταμυλοτρανσφεράσης (γ-GT) και της α-φετοπρωτεΐνης (AFP), ενζύμων που δηλώνουν ηπατική βλάβη. Χορήγηση βρωμικού σε αρουραίους έδειξε αύξηση των επιπέδων της τρανσαμινάσης γλουταμικού οξαλικού οξέος (SGOT/AST), της τρανσαμινάσης πυροσταφυλικού γλουταμινικού (SGPT/ALT), της αφυδρογονάσης γαλακτικού (LDH), της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP), της χολινεστεράσης και του αζώτου ουρίας αίματος, παράγοντες που υποδεικνύουν ηπατική και νεφρική βλάβη. Μελέτες που ακολούθησαν σε πειραματόζωα έδειξαν πως το κύριο όργανο που επηρεάζεται από τα βρωμικά είναι οι νεφροί, προκαλώντας αδενώματα και καρκινώματα [106]. Η ουσία κατηγοριοποιήθηκε από την IARC στην ομάδα 2B ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο [94].

1,2-διβρωμο-3-χλωροπροπάνιο (1,2-Dibromo-3-Chloropropane)

Έχει χρησιμοποιηθεί ως παρασιτοκτόνο σε αγροτικές καλλιέργειες και έχει βρεθεί σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο επεξεργασμένο νερό. Ανήκει στη κατηγορία 2B κατά IARC ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο, καθώς μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν πρόκληση καρκίνου του μαστού σε θυληκούς αρουραίους και καρκίνο των πλακωδών κυττάρων του στομάχου και στα δύο φύλα. Αποτελέσματα ερευνών με άτομα που εκτέθηκαν σε 1,2-διβρωμο-3-χλωροπροπάνιο, έδειξαν αυξημένα επίπεδα της θυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH), γεγονός που υποδηλώνει ότι η ουσία έχει αναπαραγωγική τοξικότητα [86, 107].

1,1,1-Τριχλωροαιθάνιο (1,1,1-Trichloroethane)

Απαντάται ως παραπροϊόν απολύμανσης στο πόσιμο νερό και στο θαλάσσιο έρμα, ενώ επιπλέον έχει χρησιμοποιηθεί ως καθαριστικό μέσο μετάλλων και ηλεκτρικών συσκευών. Απορροφάται μέσω της εισπνοής, της κατάποσης και μέσω του δέρματος.

Έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις 1,1,1-Τριχλωροαιθανίου, οδηγεί σε συσσώρευση λίπους στο ήπαρ (ηπατική στεάτωση), πνευμονικό οίδημα και καταβολή του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ). Αποβάλλεται μέσω της εκπνοής ως 1,1,1-Τριχλωροαιθάνιο, ενώ ένα μικρό ποσοστό της ουσίας αποβάλλεται μέσω των ούρων με τους μεταβολίτες του, 2,2,2-trichloroethanol και trichloroacetic acid. Έχει κατηγοριοποιηθεί στην κατηγορία 3 κατά IARC και η ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI) για τον άνθρωπο ορίζεται σε 0,6 mg/kg σωματικού βάρους ^[86, 107].

Τετραχλωράνθρακας (Carbon tetrachloride)

Έχει χρησιμοποιηθεί ως ψυκτικό μέσο και έχει βρεθεί σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο νερό. Ανήκει στην κατηγορία 2B κατά IARC ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Αποτελέσματα μελετών σε πειραματόζωα έδειξαν πρόκληση ηπατοκυτταρικού καρκίνου, που μπορεί να οφείλεται στην ιδιότητα του τετραχλωράνθρακα να σχηματίζει μη αναστρέψιμους δεσμούς με τα μακρομόρια των ηπατικών κυττάρων. Το όριο ημερήσιας πρόσληψης (TDI) για τον άνθρωπο ισούται με 1,4 µg/kg σωματικού βάρους ^[86, 107].

Τετραχλωροαιθένιο (Tetrachloroethene)

Έχει χρησιμοποιηθεί ως διαλύτης σε στεγνοκαθαριστήρια και για τον καθαρισμό μετάλλων. Έχει βρεθεί σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο νερό και στον ατμοσφαιρικό αέρα. Αποτελέσματα μελετών σε εργαζομένους σε στεγνοκαθαριστήρια που εκτέθηκαν σε τετραχλωροαιθένιο, έδειξαν υψηλή συσχέτιση πρόκλησης διαφόρων τύπων καρκίνου. Πιο συγκεκριμένα, η έκθεση σε τετραχλωροαιθένιο οδηγεί σε συσσώρευση της ένωσης στο λιπώδη ιστό και έχει συσχετιστεί με καρκίνο της ουροδόχου κύστης, του οισοφάγου, των νεφρών, του μαστού και του τραχήλου της μήτρας. Ακόμα, η έκθεση σε τετραχλωροαιθένιο προκαλεί μη Hodgkins λεμφώματα. Η ένωση έχει κατηγοριοποιηθεί στην ομάδα 2A κατά IARC, ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο και το όριο ημερήσιας πρόσληψης (TDI) ισούται με 14 µg/kg σωματικού βάρους ^[86, 108].

Τριχλωροαιθένιο (Trichloroethene)

Έχει χρησιμοποιηθεί ως διαλύτης σε στεγνοκαθαριστήρια και έχει βρεθεί σε χαμηλές συγκεντρώσεις στον ατμοσφαιρικό αέρα και στο νερό. Η έκθεση ατόμων σε τριχλωροαιθένιο έχει συσχετιστεί κυρίως με την πρόκληση καρκίνου των νεφρών. Άλλες επιπτώσεις της έκθεσης στην ουσία περιλαμβάνουν την καταβολή του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), επιπτώσεις στην αναπαραγωγή καθώς και καρκίνο του ήπατος, του τραχήλου της μήτρας και λεμφοκυτταρικό καρκίνο. Η ένωση κατηγοριοποιήθηκε στην ομάδα 1 κατά IARC, ως καρκινογόνο για τον άνθρωπο ^[108].

1,2-Διβρωμοαιθάνιο (1,2-Dibromoethane)

Το 1,2- διβρωμοαιθάνιο έχει χρησιμοποιηθεί ως καθαριστικό μολύβδου στη βενζίνη, ως παρασιτοκτόνο σε αγροτικές καλλιέργειες και έχει βρεθεί σε υπόγεια ύδατα. Μελέτες με πειραματόζωα, μετά τη χορήγηση 1,2-διβρωμοαιθανίου από του στόματος, έδειξαν αύξηση των περιστατικών καρκίνου του στομάχου και του οισοφάγου σε ποντίκια και αύξηση του καρκίνου του στομάχου και της σπλήνας σε αρουραίους. Έκθεση μέσω της εισπνοής και του δέρματος σε πειραματόζωα έδειξαν επιπλέον την πρόκληση καρκίνου των πνευμόνων, της στοματικής κοιλότητας, του κυκλοφοριακού συστήματος και του δέρματος. Αποτελέσματα περιστατικών οξείας έκθεσης ατόμων σε 1,2-διβρωμοαιθάνιο έδειξαν ότι η ένωση προκαλεί μεταβολική οξέωση, νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια. Η

ένωση ανήκει στην κατηγορία 2Α κατά IARC, ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο [109]

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) μέσω των τοξικολογικών μελετών σε πειραματόζωα, έχει ορίσει τα ανώτατα επιτρεπτά όρια ημερήσιας κατανάλωσης ορισμένων (TDI) ουσιών, ενώ η τεχνική ομάδα του IMO – GESAMP – έχει ορίσει τα όρια έκθεσης του ανθρώπου σε αυτές τις ενώσεις [23].

Πίνακας 3. Τιμές αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης (TDI) παραπροϊόντων απολύμανσης σύμφωνα με τον WHO [86] και όρια έκθεσης από την GESAMP [23]

Ουσία	Ανεκτή Ημερήσια Πρόσληψη (TDI) (μg/kgbw) σύμφωνα με τον WHO	Όρια έκθεσης σύμφωνα με την GESAMP(μg/kg bw/d)		
		DNEL worker	DNEL general public	DMEL
Bromate		22	11	0,11
Chlorate	0–10	100	5	-
Chlorite	0–30			
Chlorine	150			
Total Trihalomethanes				
Bromodichloromethane	-	40	20	2,4
Dibromochloromethane	21,4	210	110	1,5
Bromoform	17,9	180	89	7,7
Chloroform	15	240	120	-
Haloacetic acids				
Dichloroacetic acid	-	120	60	1,7
Monochloroacetic acid	3,5	70	35	-
Trichloroacetic acid	32,5	860	430	-
Dibromoacetic acid	20*	72	36	0,13
Tribromoacetic acid		860	430	-
Monobromoacetic acid		70	35	-
Dibromochloroaceticacid		$3 \cdot 10^{-4}$	150	-
Bromochloroaceticacid		$7,5 \cdot 10^{-5}$	380	0,13
Dichlorobromoaceticacid		5,0	2500	1,7

DNEL workers: Derived No-Effect Level, συγκέντρωση πάνω από την οποία ο εργαζόμενος δεν επιτρέπεται να εκτεθεί

DNEL general public: Derived No-Effect Level, συγκέντρωση πάνω από την οποία ο γενικός πληθυσμός δεν επιτρέπεται να εκτεθεί

DMEL: Derived Minimal Effect Level, συγκέντρωση στην οποία παρατηρείται ελάχιστη επίδραση στην ανθρώπινη υγεία

TDI: Tolerable Daily Intake εκτιμώμενη συγκέντρωση μίας ουσίας την οποία μπορεί να λαμβάνει μακροχρόνια ο άνθρωπος μέσω φαγητού ή πόσιμου νερού χωρίς να παρατηρούνται επιπτώσεις στην υγεία του [86]

*τιμή που δόθηκε από το Διεθνές Πρόγραμμα Χημικής Ασφάλειας(International Programme on Chemical Safety, IPCS) [110]

3.3.4. Εργαστηριακός Έλεγχος των Παραπροϊόντων Απολύμανσης στο Θαλάσσιο Έρμα

Είναι απαραίτητο να διενεργείται εργαστηριακός έλεγχος του θαλάσσιου έρματος, αφενός για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της λειτουργίας ενός συστήματος που είναι εγκατεστημένο στο πλοίο και αφετέρου για τον έλεγχο των παραπροϊόντων απολύμανσης που σχηματίζονται. Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει μικροβιολογικές και χημικές αναλύσεις του επεξεργασμένου θαλάσσιου έρματος.

Ο μικροβιολογικός έλεγχος γίνεται με σκοπό την διαπίστωση της συμμόρφωσης λειτουργίας του συστήματος επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος, σύμφωνα με το πρότυπο απόδοσης θαλάσσιου ερματος (Κανονισμός D-2), όπως ορίζεται από τη Διεθνή Σύμβαση. Σύμφωνα με την οδηγία G2 (Guidelines for Ballast Water Sampling, MEPC.173(58)) και τον Κανονισμό D-2 της Σύμβασης, ο μικροβιολογικός έλεγχος του έρματος περιλαμβάνει έλεγχο της σύνθεσης του έρματος, καθώς και τη συγκέντρωση και βιωσιμότητα των οργανισμών και μικροοργανισμών που υπάρχουν στο θαλάσσιο έρμα. Ο έλεγχος αυτός, επιτυγχάνεται με δοκιμές που βασίζονται στην ανίχνευση και μέτρηση των ζώντων οργανισμών και μικροοργανισμών, καθώς και ορισμένων μικροβιακών πληθυσμών, οι οποίοι λειτουργούν ως δείκτες μόλυνσης, όπως είναι οι εντερόκοκκοι (*Enterococcus*).

Λόγω των μεθόδων απολύμανσης που χρησιμοποιούνται, σχηματίζονται – όπως ήδη περιγράφηκε – παραπροϊόντα απολύμανσης, τα οποία μπορεί να είναι επικίνδυνα για το περιβάλλον και τη Δημόσια Υγεία. Παρόλο που μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν ολοκληρωμένες οδηγίες για τα όρια συγκεντρώσεων των παραπροϊόντων απολύμανσης που απορρίπτονται από το θαλάσσιο έρμα, η εμπειρία από τις επιπτώσεις που μπορεί να προκαλέσουν στην ανθρώπινη υγεία και η κατηγοριοποίηση ορισμένων ενώσεων από Οργανισμούς ως πιθανά καρκινογόνα για τον άνθρωπο – και επιπλέον η ύπαρξη παραμετρικών τιμών στο πόσιμο νερό – εισαγεί την ανάγκη πραγματοποίησης του χημικού ελέγχου του θαλάσσιου έρματος, ώστε να ελέγχεται και να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος έκθεσης του ανθρώπου σε αυτές τις ουσίες. Η αναφορά Vessel Discharge Sample Collection & Analytical Monitoring της EPA αναφέρει τα παράγωγα των βιοκτόνων που πρέπει να ελέγχονται, καθώς επίσης και τους κύκλους ελέγχου που πρέπει να πραγματοποιούνται. Ο αρχικός έλεγχος των συγκεντρώσεων των παραπροϊόντων απολύμανσης πρέπει να γίνεται 3 φορές για τους 10 πρώτους κύκλους αφερματισμού και στη συνέχεια ο έλεγχος γίνεται 2 φορές τον χρόνο για παρακολούθηση ^[84]. Υπάρχουν αρκετές διαφορετικές μέθοδοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό των παραπροϊόντων απολύμανσης (Παράρτημα, Πίνακας 31). Στο επόμενο κεφάλαιο, παρουσιάζονται αναλυτικότερα οι κυριότερες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται.

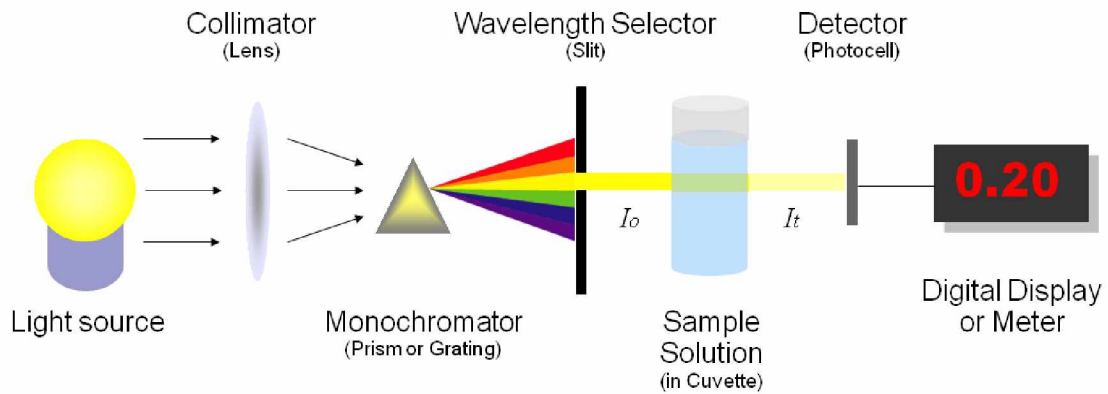
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Βασικές Μέθοδοι Ενόργανης Χημικής Ανάλυσης στον Έλεγχο του Θαλάσσιου Έρματος

Η Αναλυτική Χημεία είναι ο κλάδος της Χημείας που έχει ως σκοπό την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των συστατικών ενός χημικού συστήματος. Περιλαμβάνει δύο κύριες κατηγορίες, τις κλασσικές αναλυτικές και τις ενόργανες αναλυτικές τεχνικές. Η επιλογή της τεχνικής εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του δείγματος, την διαθέσιμη ποσότητά του, τις ουσίες που είναι επιθυμητό να μετρηθούν, το κόστος και τον χρόνο ανάλυσης. Η ενόργανη ανάλυση, περιλαμβάνει τεχνικές που βασίζονται στις φυσικοχημικές ιδιότητες των στοιχείων και των ενώσεων, όπου, μετρώντας την τιμή μιας τέτοιας ιδιότητας ενός συστατικού, είναι δυνατόν να προσδιοριστεί ποσοτικά και ποιοτικά. Δύο κύριες ενόργανες τεχνικές που εφαρμόζονται για την χημική ανάλυση δειγμάτων διαφόρων υποστρωμάτων, είναι η χρωματογραφική ανάλυση και η φασματοφωτομετρία. Η φασματοφωτομετρία χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό ουσιών σε ένα διάλυμα, σύμφωνα με την μέτρηση της απορρόφησης ή εκπομπής της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας των ουσιών του διαλύματος σε συγκεκριμένο μήκος κύματος. Η χρωματογραφία είναι μια διαχωριστική τεχνική, η οποία βασίζεται στην άνιση κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ δύο μη αναμειγνύομενων φάσεων – της κινητής και της σταθερής φάσης. Ανάλογα με το είδος της κινητής φάσης, δηλαδή αν αυτή είναι αέριο ή υγρό, ο τύπος της χρωματογραφίας χαρακτηρίζεται ως αέρια και υγρή χρωματογραφία αντίστοιχα.

4.1. Φασματοφωτομετρία

Τα φασματοφωτόμετρα χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό ουσιών σε ένα διάλυμα. Η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στην μέτρηση της απορρόφησης ή εκπομπής της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ενός διαλύματος σε συγκεκριμένο μήκος κύματος, χαρακτηριστικό για κάθε ουσία. Μια πηγή φωτός (λυχνία) παράγει ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, η οποία – με τη βοήθεια ενός μονοχρωμάτορα ή πρίσματος – έχει συγκεκριμένο μήκος κύματος. Εν συνεχεία, διέρχεται από το υδατικό διάλυμα, το οποίο περιέχει ουσίες συγκεκριμένης συγκέντρωσης, που απορροφούν ένα μέρος αυτής της ακτινοβολίας. Η ποσότητα της ακτινοβολίας που δεν απορροφήθηκε καταλήγει σε ένα ανιχνευτή φωτός. Η διαφορά στην ένταση της αρχικής ακτινοβολίας που παρήχθη από τη λυχνία και της ακτινοβολίας που εξήλθε από το δείγμα, αντιστοιχεί στην ποσότητα της ακτινοβολίας που απορροφήθηκε. Ανάλογα με το εύρος του μήκους κύματος της λυχνίας, τα φασματοφωτόμετρα διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει τα φασματοφωτόμετρα ορατού-υπεριώδους (UV-Visible), τα οποία χρησιμοποιούν μήκη κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας (185-400 nm) και του ορατού φάσματος (400-700 nm). Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει φασματοφωτόμετρα υπέρυθρου φωτός (700-15000 nm) ^[111].



Εικόνα 29. Βασική οργανολογία φασματοφωτομέτρου [111]

Η απορρόφηση της ακτινοβολίας και η συγκέντρωση της ουσίας, συνδέονται από το νόμο Lambert-Beer.

$$A = \varepsilon(\lambda) \cdot l \cdot C$$

όπου,

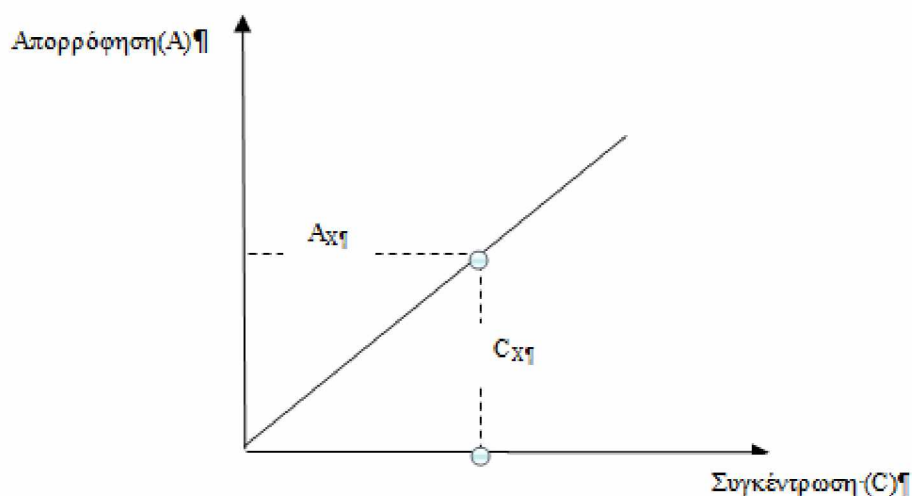
A: απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

$\varepsilon(\lambda)$: ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης

l: το μήκος της διαδρομής της ακτινοβολία (πάχος κυψελίδας)

C: η συγκέντρωση της ουσίας στο δείγμα

Η συγκέντρωση της ουσίας είναι ανάλογη με την τιμή της ακτινοβολίας που απορροφήθηκε, καθώς τα μεγέθη $\varepsilon(\lambda)$ και l σε κάθε μέτρηση παραμένουν σταθερά. Ο έλεγχος και η γνωστοποίηση της σχέσης απορρόφησης – συγκέντρωσης ονομάζεται βαθμονόμηση και η γραφική παράσταση που την αντιπροσωπεύει καλείται καμπύλη βαθμονόμησης. Η καμπύλη βαθμονόμησης σχεδιάζεται με τη βοήθεια πρότυπων διαλυμάτων μια ουσίας, δηλαδή διαλύματα που έχουν γνωστή συγκέντρωση.



Εικόνα 30. Καμπύλη Βαθμονόμησης

4.2. Προκατεργασία δειγμάτων πριν την χρωματογραφική ανάλυση

Οι ενόργανες αναλυτικές τεχνικές βρίσκουν εφαρμογή σε αρκετούς επιστημονικούς κλάδους. Κατά κανόνα, η ανάλυση ενός δείγματος ακολουθεί μια σειρά βημάτων, τα οποία είναι: η δειγματοληψία, η συντήρηση ή αποθήκευση, η προετοιμασία και η μέτρηση των ουσιών του δείγματος με την κατάλληλη αναλυτική μέθοδο. Η δειγματοληψία αφορά την επιλογή αντιπροσωπευτικού δείγματος του υποστρώματος. Η συντήρηση του δείγματος εξασφαλίζει τη διατήρηση των χημικών και φυσικών χαρακτηριστικών του δείγματος, όταν η μέτρηση απέχει χρονικά της δειγματοληψίας. Ο τρόπος δειγματοληψίας και συντήρησης των δειγμάτων θαλάσσιου έρματος, αναλύονται στο Πειραματικό μέρος. Η προετοιμασία του δείγματος για την μέτρηση, ώστε αυτή να αφορά μόνο στις ουσίες του δείγματος που προορίζονται για ανάλυση, είτε με απομάκρυνση των παρεμποδίζουσων ουσιών είτε με απομόνωση του προσδιοριζόμενου συστατικού, επιτυγχάνεται με τη χρήση διαχωριστικών τεχνικών. Μια από τις κύριες τεχνικές διαχωρισμού ουσιών αποτελεί η εκχύλιση, η οποία χρησιμοποιείται σε πλήθος εφαρμογών για τον διαχωρισμό των συστατικών ενός δείγματος, τον καθαρισμό των ουσιών, την απομόνωση και προ-συγκέντρωση των ουσιών. Έχει ως στόχο την απομόνωση του αναλύτη (της προς ανάλυση ουσίας) από τα υπόλοιπα συστατικά του δείγματος και βασίζεται στην κατανομή μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων που αναμιγνύονται ελάχιστα ή καθόλου μεταξύ τους. Στις τεχνικές εκχύλισης περιλαμβάνονται: η εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE), η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Micro-Extraction, SPME) και η εκχύλιση υγρού-υγρού (Liquid-Liquid Extraction, LLE), η οποία χρησιμοποιήθηκε κατά το πειραματικό μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Εκχύλιση Υγρού-Υγρού (Liquid-Liquid Extraction, LLE)

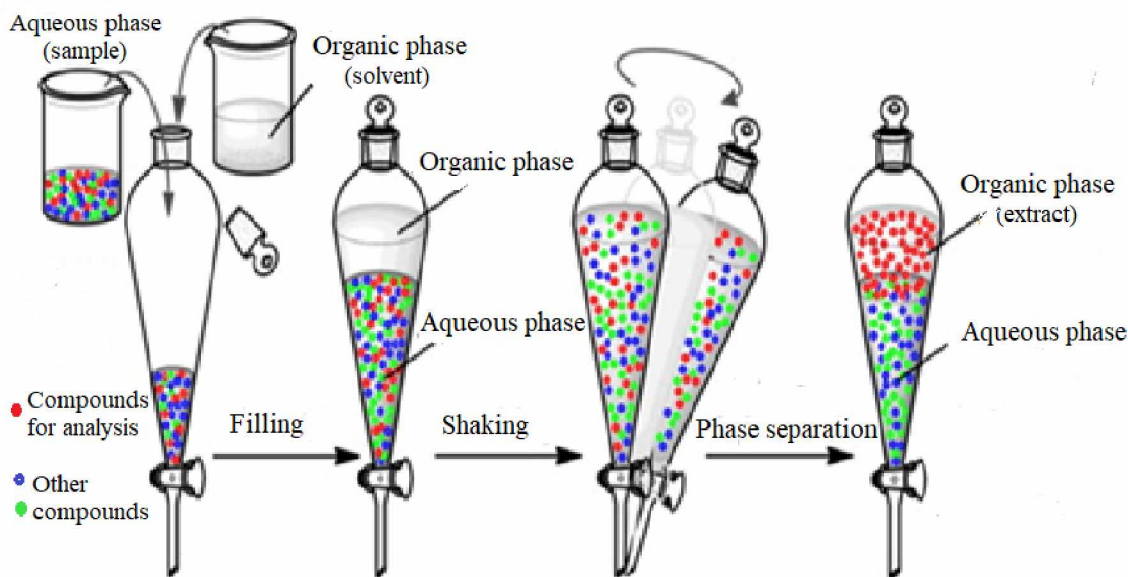
Είναι μια τεχνική που επιτρέπει το διαχωρισμό μιας ουσίας που βρίσκεται διαλυμένη εντός ενός δείγματος από άλλες ουσίες του δείγματος αυτού, με βάση την κατανομή της ουσίας μεταξύ δύο υγρών, τα οποία δεν αναμιγνύονται μεταξύ τους. Το ένα υγρό – ή φάση – είναι συνήθως νερό, ενώ η δεύτερη φάση είναι ένας οργανικός διαλύτης που δεν αναμιγνύεται με το νερό. Σε μια διαχωριστική χοάνη, συγκεκριμένος όγκος των δύο φάσεων έρχεται σε επαφή και ακολουθεί ανακίνηση. Με τον τρόπο αυτό, η ουσία κατανέμεται μεταξύ των δύο φάσεων σε ορισμένη αναλογία, ενώ ισορροπία αποκαθίσταται όταν η ελεύθερη ενέργεια της διαλυμένης ουσίας είναι ίδια και στις δύο φάσεις. Η κατανομή της ουσίας σε δεδομένη θερμοκρασία περιγράφεται από το συντελεστή κατανομής της ουσίας αυτής, δηλαδή με το λόγο της συγκέντρωσης της ουσίας στον οργανικό διαλύτη προς τη συγκέντρωσή της ουσίας στο υδατικό μέσο^[112].

$KD=C2/C1$,όπου KD: ο συντελεστής κατανομής

C2: η συγκέντρωση της ουσίας στον οργανικό διαλύτη

C1: η συγκέντρωση της ουσίας στο υδατικό μέσο

Ο νόμος αυτός ισχύει όταν η διαλυμένη ουσία βρίσκεται με την ίδια ακριβώς μορφή και στις δύο φάσεις.



Εικόνα 31. Στάδια εκχύλισης υγρού-υγρού^[113] (Προσαρμοσμένη εικόνα)

Κριτήρια επιλογής εκχυλιστικού μέσου:

- Να μην αντιδρά με την εκχυλιζόμενη ουσία
- Οι δυο φάσεις να διαχωρίζονται σαφώς
- Να υπάρχει αμελητέα διαλυτότητα των δύο υγρών φάσεων
- Μεγάλη διαλυτότητα της ουσίας στο διαλύτη
- Εύκολη ανάκτηση της ουσίας
- Ο διαλύτης να μην είναι τοξικός και εύφλεκτος
- Μικρή διαλυτότητα των ανεπιθύμητων ουσιών
- Να μην σχηματίζουν γαλάκτωμα στη διεπιφάνεια των δύο φάσεων

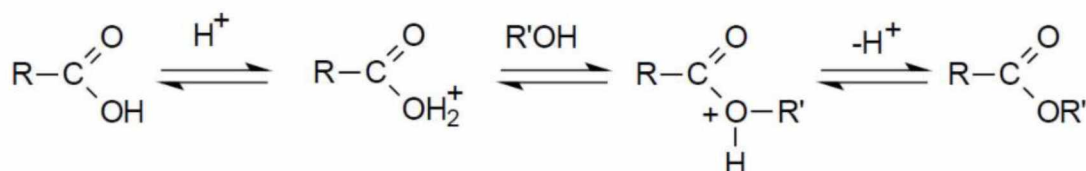
Παράγοντες βελτιστοποίησης απόδοσης^[114]:

- το είδος του διαλύτη που χρησιμοποιείται
- τη θερμοκρασία που πραγματοποιείται η εκχύλιση
- τον όγκο του δείγματος σε σχέση με τον διαλύτη
- το pH του δείγματος
- τον ρυθμό ανάδευσης (stirring rate)
- το χρόνο εκχύλισης (extraction time)
- την εξαλάτωση του δείγματος (salting out)

Παραγωγοποίηση (Derivatization)

Μία ακόμη τεχνική προκατεργασίας ενός δείγματος που χρησιμοποιείται πριν την χρωματογραφική ανάλυση, είναι η τεχνική της παραγωγοποίησης. Η παραγωγοποίηση χρησιμοποιείται συνήθως σε συνδυασμό με κάποια τεχνική εκχύλισης και αποσκοπεί στη βελτίωση της ανίχνευσης των προσδιοριζόμενων αναλυτών και στην βελτίωση του διαχωρισμού των αναλυτών κατά την χρωματογραφική ανάλυση. Αυτό επιτυγχάνεται με τη μετατροπή αναλυτών υψηλής πολικότητας ή χαμηλής πτητικότητας σε ένα παράγωγο των αναλυτών χαμηλής πολικότητας ή υψηλής πτητικότητας και την βελτίωση της θερμικής σταθερότητας των αναλυτών^[114]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η

παραγωγοποίηση των αλογονοξικών οξέων – οι οποίοι είναι σχετικά πολικές, μη-πητικές και υδατοδιαλυτές ενώσεις – σε εστέρες, οι οποίοι είναι περισσότερο πητικοί από τα αντίστοιχα οξέα τους και καταλληλότεροι για χρωματογραφική ανάλυση ^[115]. Η διαδικασία της παραγωγοποίησης ενός καρβοξυλικού οξέως στον αντίστοιχο εστέρα, γίνεται με την προσθήκη μίας αλκοόλης υπό την επίδραση ενός όξινου καταλύτη – ώστε το καρβοξυλικό οξύ να λάβει την πρωτονιωμένη μορφή του – και ακόλουθης θέρμανσης ^[116].



Εικόνα 32. Μηχανισμός εστεροποίησης ^[116]

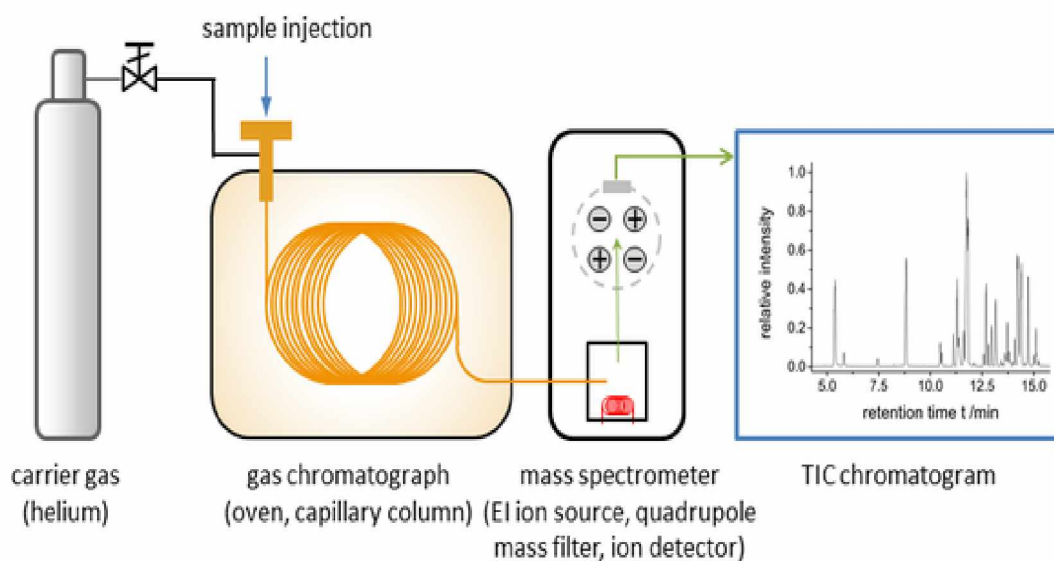
4.3. Ενόργανη Ανάλυση

4.3.1. Αέρια Χρωματογραφία

Η αέρια χρωματογραφία είναι μια τεχνική, η οργανολογία της οποίας αποτελείται από μία πηγή αερίου, το σύστημα εισαγωγής δείγματος (injector) – το οποίο επιτρέπει την εισαγωγή του δείγματος μέσω ενός ελαστικού διαφράγματος (septum) –, την χρωματογραφική στήλη (column), τον ανιχνευτή και ένα σύστημα καταγραφής και απεικόνισης των αποτελεσμάτων. Πιο συγκεκριμένα, η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιεί ως σταθερή φάση μια στερεά ουσία – η οποία συγκρατείται σε αδρανές υλικό εντός της χρωματογραφικής στήλης – και ως κινητή φάση ένα αδρανές αέριο – το οποίο ονομάζεται φέρον αέριο και μπορεί να είναι άζωτο, αργό, ήλιο ή υδρογόνο. Ο διαχωρισμός των ουσιών στη χρωματογραφική στήλη επιτυγχάνεται χάρη στην άνιση κατανομή των ουσιών μεταξύ της στατικής και κινητής φάσης. Σημαντικό ρόλο στην ανάλυση και στο διαχωρισμό των αναλυτών διαδραματίζει η φύση του υλικού της χρωματογραφικής στήλης, το πάχος και το συνολικό μήκος αυτής. Ο αέριος χρωματογράφος μπορεί να συνδυαστεί με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (gas chromatography – flame ionization detector, GC-FID), με φασματομετρία κινητικότητας ιόντων (gas chromatography – ion mobility spectrometer, GC-IMS), με φασματογράφο μάζας (gas chromatography – mass spectrometry, GC-MS) και με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (electron capture detector, GC-ECD) ^[117]. Τα συστήματα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS) και αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD) είναι διαθέσιμα στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, από τα οποία το τελευταίο χρησιμοποιήθηκε στο πειραματικό μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας ^[118].

4.3.2. Αέρια χρωματογραφία- φασματομετρία μαζών (GC-MS)

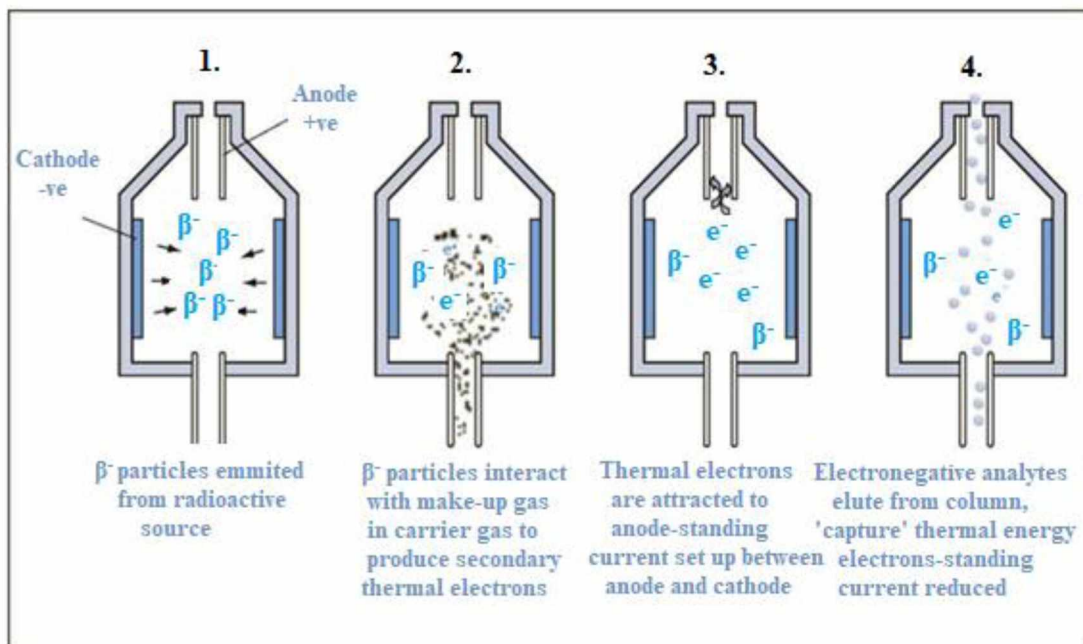
Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μαζών αποτελεί την κύρια αναλυτική οργανολογία με την οποία επιτυγχάνεται βέλτιστος διαχωρισμός και ταυτοποίηση πτητικών οργανικών ενώσεων. Η φασματομετρία μάζας είναι ομάδα τεχνικών για την ανίχνευση και ταυτοποίηση της μοριακής δομής των χημικών ενώσεων. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στον ιονισμό των ενώσεων και στην αλληλεπίδραση με ηλεκτρομαγνητικό πεδίο. Ο φασματογράφος μάζας αποτελείται από την πηγή ιόντων, τον αναλυτή μαζών και τον ανιχνευτή. Οι πηγές ιόντων που μπορεί να διαθέτει ένας φασματογράφος είναι ο ιονισμός κρούσης με ηλεκτρόνια (Electron Impact, EI) και ο χημικός ιονισμός (Chemical Ionization, CI). Ο αναλυτής μαζών είναι υπεύθυνος για τον διαχωρισμό των ιόντων που προκύπτουν, βάση λόγου μάζας προς το φορτίο (m/z). Τα είδη αναλυτή που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι ο τετραπολικός (Quadrupole), το τριπλό τετράπολο (Triple-Quadrupole), ο ανιχνευτής παγίδας ιόντων (Ion Trap), ο αναλυτής μαζών χρόνου πτήσης (Time-of-Flight) και η τροχιακή παγίδα ιόντων (Orbitrap). Τέλος, ο ανιχνευτής, ανιχνεύει τα ιόντα των αναλυόμενων ουσιών, τα οποία ταυτοποιούνται με βάση τον λόγο m/z ^[119]. Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών βρίσκει εφαρμογή στην ανάλυση και ταυτοποίηση διαφόρων αναλυτών σε βιολογικά και περιβαλλοντικά δείγματα. Οι J. Caro και M. Callego μελέτησαν τριαλογονομεθάνια σε δείγματα ούρων ατόμων που εργάζονταν και επισκέπτονταν μία εσωτερική κολυμβητική δεξαμενή, η απολύμανση της οποίας γινόταν με χλώριο. Η ανάλυση των τριαλογονομεθανίων σε δείγματα ούρων έγινε με τη χρήση του GC-MS ^[120]. Οι Allard et al. ανέπτυξαν μία μέθοδο με τη χρήση συστήματος GC-MS για την ανάλυση 10 τριαλογονομεθανίων σε πόσιμο νερό μετά από τη διαδικασία της χλωραμίνωσης ^[121]. Διεθνείς Οργανισμοί έχουν συστήσει την χρήση του συστήματος GC-MS ως μέθοδο αναφοράς για τον προσδιορισμό οργανικών πτητικών ενώσεων σε περιβαλλοντικά δείγματα. Όμως, παρόλο που η χρήση του συστήματος GC-MS προσφέρει βέλτιστο διαχωρισμό και ταυτοποίηση πλήθους ενώσεων, παρουσιάζει το μειονέκτημα του υψηλού κόστους ανάλυσης.



Εικόνα 33. Απεικόνιση αέριου χρωματογράφου συζευγμένο με φασματογράφο μαζών ^[122]

4.3.3. Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD)

Είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ηλεκτραρνητικών αναλυτών, κυρίως αλογονομένων ενώσεων, νιτριλίων και ενώσεων περιβαλλοντικού ενδιαφέροντος, όπως είναι ορισμένα φυτοφάρμακα. Η αρχή μεθόδου βασίζεται στη χρήση ραδιενεργούς πηγής – ραδιενεργό Νικέλιο (radionuclide ^{63}Ni) – που παράγει β-σωματίδια (β -particles). Με τη συνεχή ροή ενός αερίου στον ανιχνευτή ρέει συνεχώς ένα βοηθητικό αέριο (make-up gas), το οποίο τα β-σωματίδια διασπών, με αποτέλεσμα την παραγωγή περισσότερων ελεύθερων ηλεκτρονίων. Κατά κύριο λόγο, το make-up gas που χρησιμοποιείται είναι το άζωτο (N_2), το οποίο έχει μικρή ενέργεια ιονισμού. Τα ηλεκτρόνια που παράγονται, καταλήγουν στην θετικά φορτισμένη άνοδο του ανιχνευτή, δίνοντας ένα σταθερό σήμα (baseline). Ένα δείγμα που περιέχει ενώσεις με ηλεκτραρνητικά στοιχεία, μεταφέρεται με το φέρον αέριο (carrier gas) – συνήθως He – στη χρωματογραφική στήλη, όπου διαχωρίζονται και έπειτα εισέρχονται στον ανιχνευτή. Οι ουσίες αυτές, λόγω της υψηλής ηλεκτραρνητικότητας των στοιχείων τους, απορροφούν τα ηλεκτρόνια που παράγονται από τη διάσπαση του N_2 . Η απορρόφηση αυτή οδηγεί σε αλλαγή της συνεχούς ροής των ηλεκτρονίων, η οποία καταγράφεται ως σήμα-κορυφή στο χρωματογράφημα. Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων διαθέτει υψηλή ευαισθησία και επιλεκτικότητα για ορισμένες ομάδες ενώσεων με ηλεκτραρνητικά στοιχεία, όπως είναι τα αλογονωμένα παραπροϊόντα απολύμανσης ^[117].



Εικόνα 34. Αρχή μεθόδου λειτουργίας ανιχνευτή ECD ^[123] 1. β-σωματίδια εκλύονται από την ραδιενεργή πηγή, 2. Τα β-σωματίδια αντιδρούν με το make-up gas παράγοντας ελεύθερα ηλεκτρόνια, 3. Τα ηλεκτρόνια έλκονται στη θετικά φορτισμένη άνοδο – παρέχοντας ένα σταθερό σήμα μεταξύ ανόδου και καθόδου 4. Ηλεκτραρνητικά στοιχεία που εκλύονται από την χρωματογραφική στήλη, δεσμεύουν τα ελεύθερα ηλεκτρόνια με αποτέλεσμα την αλλαγή του σήματος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Επικύρωση Αναλυτικών Μεθόδων

Σκοπός της επικύρωσης μίας αναλυτικής μεθόδου (method validation) είναι η επιβεβαίωση μέσω εξέτασης και παροχής αντικειμενικών αποδείξεων, ότι η μέθοδος που εφαρμόζεται παρέχει τη διασφάλιση της απόδοσης και της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων για το σκοπό για τον οποίο έχει αναπτυχθεί. Η επικύρωση μιας αναλυτικής μεθόδου διαχωρίζεται σε τρεις κατηγορίες. Οι κατηγορίες αυτές περιλαμβάνουν την πλήρη επικύρωση (full validation), την μερική επικύρωση (partial validation) – η οποία γίνεται στην περίπτωση τροποποιήσεων μιας πλήρως επικυρωμένης μεθόδου – και την διασταυρούμενη επικύρωση (cross validation) – η οποία γίνεται όταν συγκρίνονται δύο αναλυτικές μέθοδοι ^[124, 125]. Η πλήρης επικύρωση μίας αναλυτικής μεθόδου περιλαμβάνει μελέτες δοκιμών που αφορούν την επιλεκτικότητα της μεθόδου (selectivity), την εξειδίκευση (specificity), την ευαισθησία (sensitivity), τη γραμμικότητα (linearity), την ακρίβεια (accuracy), την πιστότητα (precision), το όριο ανίχνευσης (LOD), το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) και την σταθερότητα (stability) ^[124-127].

1) Εξειδίκευση (Specificity) και Επιλεκτικότητα (Selectivity)

Η εξειδίκευση ή ειδικότητα της μεθόδου αφορά την ικανότητα της αναλυτικής μεθόδου στο να προσδιορίζει τους αναλύτες ενός δείγματος για τους οποίους έχει εξαρχής σχεδιαστεί. Η μέθοδος, δηλαδή, να μπορεί να προσδιορίσει ορθά τους αναλύτες, χωρίς να υπάρχει επίδραση από άλλα συστατικά του δείγματος. Η ικανότητα της μεθόδου να διακρίνει και να προσδιορίζει μόνο τους αναλύτες εξαρτάται από την προετοιμασία του δείγματος και τις διαχωριστικές ικανότητες του αναλυτικού οργάνου ^[124]. Επιλεκτικότητα είναι η ικανότητα της αναλυτικής μεθόδου να διαχωρίζει και να ποσοτικοποιεί τις ουσίες για τις οποίες έχει σχεδιαστεί η μέθοδος, από άλλα συστατικά που μπορεί να υπάρχουν στο δείγμα ^[125].

2) Ακρίβεια (Accuracy)

Η ακρίβεια μίας αναλυτικής μεθόδου περιγράφει την εγγύτητα των αποτελεσμάτων μίας μέτρησης (παρατηρούμενη τιμή) από την πραγματική τιμή της συγκέντρωσης μίας ουσίας που υπάρχει στο δείγμα ^[125]. Η ακρίβεια προσδιορίζεται με επαναλαμβανόμενη ανάλυση δειγμάτων που περιέχουν γνωστές ποσότητες των αναλυτών (control) ή εμβολιασμένα δείγματα (spiked). Η μέση τιμή θα πρέπει να είναι εντός του 15% της πραγματικής τιμής εκτός από το LOQ, όπου δεν πρέπει να αποκλίνει περισσότερο από 20% ^[124, 125]. Η απόκλιση της μέσης από την πραγματική τιμή χρησιμεύει ως μέτρο της ακρίβειας ^[124]. Επιπλέον, η ακρίβεια αποτελεί κριτήριο για τα συστηματικά λάθη, δηλαδή μονοκατευθυνόμενα σφάλματα που οφείλονται στα όργανα μέτρησης ή στα

αντιδραστήρια. Η ακρίβεια εκφράζεται ποσοτικά είτε με το απόλυτο σφάλμα (absolute error) είτε με το σχετικό σφάλμα (relative error) ^[118]. Όσο πιο μικρό το σφάλμα των μετρήσεων, τόσο μεγαλύτερη ακρίβεια έχει η χρησιμοποιούμενη μέθοδος.

- Το απόλυτο σφάλμα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$e = x_i - \tau$$

όπου

x_i : η τιμή μιας μέτρησης

τ : η πραγματική τιμή

- Το σχετικό σφάλμα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$e_r = e / \tau$$

όπου,

e : το απόλυτο σφάλμα

τ : η πραγματική τιμή

Επιπλέον μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το εκατοστιαίο σχετικό σφάλμα:

$$e_r \% = (e/\tau) * 100$$

3) Πιστότητα (Precision)

Η πιστότητα μιας αναλυτικής μεθόδου περιγράφει την εγγύτητα των μεμονωμένων και επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ενός αναλύτη σε πολλά κλάσματα (aliquot) του ίδιου δείγματος. Η πιστότητα σε κάθε μέτρηση θα πρέπει να είναι εντός του 15% της πραγματικής τιμής εκτός από το LOQ, όπου δεν πρέπει να αποκλίνει περισσότερο από 20% ^[124]. Η πιστότητα πρέπει να εκτιμάται για τα αποτελέσματα των τιμών που λαμβάνονται από την ανάλυση ενός δείγματος σε μία μέτρηση (within run) – τα αποτελέσματα των οποίων αντιπροσωπεύουν την επαναληψιμότητα – και από μια σειρά μετρήσεων σε διαφορετικές μετρήσεις (between run) ^[125] – τα αποτελέσματα των οποίων αντιπροσωπεύουν την αναπαραγωγιμότητα. Ποσοτικά, η πιστότητα εκφράζεται με τον υπολογισμό της τυπικής απόκλισης των μετρήσεων (Standard Deviation), την διακύμανση των αποτελεσμάτων (Variance, s^2), την σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation, RSD) και τον συντελεστή μεταβλητότητας (Coefficient of variation, CV) ^[124].

4) Επαναληψιμότητα (Repeatability)

Η επαναληψιμότητα εκφράζει την πιστότητα της μεθόδου υπό τις ίδιες συνθήκες ανάλυσης ^[118]. Αναλυτικότερα, η επαναληψιμότητα είναι το μέτρο της διασποράς των αποτελεσμάτων σε μετρήσεις του ίδιου δείγματος που εκτελούνται στο εργαστήριο την ίδια μέρα και υπό τις ίδιες συνθήκες ανάλυσης. Η επαναληψιμότητα είναι κριτήριο για τα τυχαία σφάλματα, δηλαδή δικατευθυνόμενα σφάλματα που μπορεί να οφείλονται σε

διαφορετικά όργανα μέτρησης, σε διαφορετικό άτομο που πραγματοποιεί τις αναλύσεις ή σε αντιδραστήρια διαφορετικού προμηθευτή. Για την εκτίμηση της επαναληψιμότητας διενεργούνται από 7 μέχρι 10 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις την ίδια μέρα, από τον ίδιο αναλυτή, στις ίδιες συνθήκες μέτρησης στο ίδιο δείγμα. Για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας υπολογίζεται ο μέσος όρος των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση, η σχετική τυπική απόκλιση και ο συντελεστής μεταβλητότητας ^[128].

5) Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility)

Η αναπαραγωγιμότητα μίας αναλυτικής μεθόδου εκφράζει το μέτρο της διασποράς μεταξύ των αποτελεσμάτων ανεξάρτητων μετρήσεων της ίδιας μεθόδου και στο ίδιο δείγμα που γίνονται με διαφορετικές συνθήκες ανάλυσης. Οι συνθήκες αυτές μπορεί να είναι διαφορετικό προσωπικό που εκτελεί τις αναλύσεις, διαφορετικά όργανα μέτρησης, διαφορετική χρονική στιγμή, ενώ ο όρος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τη συμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ δύο διαφορετικών εργαστηρίων. Για την εκτίμηση της αναπαραγωγιμότητας διενεργούνται 10 μετρήσεις από έναν αναλυτή σε διαφορετικές ημέρες ή από δύο αναλυτές την ίδια ημέρα. Για τον υπολογισμό της αναπαραγωγιμότητας υπολογίζεται ο μέσος όρος των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση, η σχετική τυπική απόκλιση και ο συντελεστής μεταβλητότητας ^[128].

- Για τον υπολογισμό της μέσης τιμής χρησιμοποιείται ο τύπος ^[118]:

$$x_{\mu} = (x_1 + x_2 + \dots + x_n) / n$$

όπου,

x_1, x_2, x_n : το αποτέλεσμα των μετρήσεων 1, 2 και n αντίστοιχα

n : ο αριθμός των μετρήσεων

- Για τον υπολογισμό της διακύμανσης χρησιμοποιείται ο τετραγωνισμός των αποκλίσεων της μέσης τιμής προς τους βαθμούς ελευθερίας ^[118]:

$$s^2 = \frac{\sum (x_{\mu} - x_n)^2}{n - 1}$$

Όπου,

s^2 : η διακύμανση

x_{μ} : η μέση τιμή των αποτελεσμάτων

x_n : ο αριθμός των μετρήσεων

$x_{\mu} - x_n$: η διαφορά μίας τιμής μέτρησης από το αποτέλεσμα κάθε μέτρησης δηλώνει την απόκλιση μίας τιμής μέτρησης

n : ο αριθμός των μετρήσεων

n-1: οι βαθμοί ελευθερίας

- Για τον υπολογισμό της τυπικής απόκλισης χρησιμοποιείται ο τύπος ^[118]:

$$SD = \sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{\sum(x_{\mu} - x_n)^2}{n-1}}$$

Όπου,

x_{μ} : η μέση τιμή των αποτελεσμάτων

x_n : τιμή της μέτρησης n

$x_{\mu} - x_n$: η διαφορά μίας τιμής μέτρησης από το αποτέλεσμα κάθε μέτρησης δηλώνει την απόκλιση μίας τιμής μέτρησης

n: ο αριθμός των μετρήσεων

n-1: οι βαθμοί ελευθερίας

- Για τον υπολογισμό της σχετικής τυπικής απόκλισης χρησιμοποιείται ο τύπος ^[118]:

$$RSD = SD/x_{\mu}$$

όπου

SD: τυπική απόκλιση

x_{μ} : η μέση τιμή

- Για τον υπολογισμό του συντελεστή μεταβλητότητας ^[118]:

$$CV = (SD / x_{\mu}) * 100$$

6) Ανάκτηση (Recovery)

Πολλές φορές, οι ουσίες που είναι επιθυμητό να προσδιοριστούν, εμπεριέχονται σε κάποιο μίγμα, από το οποίο θα πρέπει να απομονωθούν. Αυτό επιτυγχάνεται με την χρήση ορισμένων τεχνικών προκατεργασίας των δειγμάτων. Συχνά δε παρατηρείται διαφορά συγκεντρώσεων της προς ανάλυση ουσίας μεταξύ του αρχικού δείγματος και του τελικού προϊόντος της προκατεργασίας. Η διαφορά αυτή εκφράζεται ποσοτικά με το ποσοστό ανάκτησης των ουσιών. Πρακτικά, η ανάκτηση των ουσιών ελέγχεται με τον εμβολιασμό γνωστής συγκέντρωσης του αναλύτη στο υπόστρωμα ενός δείγματος και την ακολουθούμενη μέτρηση του δείγματος για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του αναλύτη ^[124, 126].

- Για τον υπολογισμό της ανάκτησης χρησιμοποιείται ο τύπος ^[118]:

$$R = [(C_{\text{spiked}} - C_{\text{unspiked}}) / C_{\text{added}}] * 100$$

Όπου,

R: η τιμή του ποσοστού της ανάκτησης

C_{spiked} : η συγκέντρωση της ουσίας που μετράται στο εμβολιασμένο δείγμα (μετά την επεξεργασία)

C_{unspiked} : η συγκέντρωση του λευκού διαλύματος (blank)

C_{added} : η συγκέντρωση που προστίθεται στο διάλυμα

7) Γραμμικότητα (Linearity)

Η γραμμικότητα ορίζεται ως η ικανότητα της μεθόδου να παρέχει γραμμική συσχέτιση των συγκεντρώσεων και των αποτελεσμάτων των αναλυτών για δεδομένο εύρος (range) συγκεντρώσεων ^[125]. Η γραμμικότητα μπορεί να υπολογιστεί με μετρήσεις της προσδιοριζόμενης ουσίας σε δείγματα που προκύπτουν από αραιώσεις του αρχικού πρότυπου διαλύματος (standard stock solution). Η γραμμικότητα αποδεικνύεται μέσω της καμπύλης βαθμονόμησης (calibration curve) δηλαδή μέσω της χάραξης καμπύλης της απόκρισης του σήματος του ανιχνευτή ως προς την ποσότητα του προσδιοριζόμενου αναλύτη που εισάγεται στο όργανο μέτρησης. Η καμπύλη βαθμονόμησης προκύπτει εφαρμόζοντας την μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων και θα πρέπει να είναι της μορφής ^[118]:

$$y=ax+\beta$$

όπου,

y: η απόκριση του ανιχνευτή (για παράδειγμα: το εμβαδόν ή το ύψος της κορυφής που λαμβάνεται από το χρωματογράφημα, η απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας)

a: η κλίση της ευθείας (slope, s)

x: η συγκέντρωση της ουσίας στο πρότυπο διάλυμα ή στο εμβολιασμένο δείγμα

β: η τεταγμένη επί την αρχή της καμπύλης βαθμονόμησης (Intercept)

Η αξιολόγηση της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματοποιείται με τον συντελεστή συσχέτισης (correlation coefficient) R και το συντελεστή προσδιορισμού (coefficient of determination) R^2 ^[118].

8) Ευαισθησία (Sensitivity)

Η ευαισθησία εκφράζει την ικανότητα της μεθόδου που χρησιμοποιείται, να ανιχνεύει και να ποσοτικοποιεί χαμηλές συγκεντρώσεις του αναλύτη. Τα εργαλεία με τα οποία εκφράζεται η ευαισθησία αποτελούν το όριο ανίχνευσης και το όριο ποσοτικοποίησης.

8α) Όριο Ανίχνευσης (Limit of Detection)

Το όριο ανίχνευσης είναι η κατώτερη συγκέντρωση του αναλύτη που μπορεί να ανιχνευθεί αλλά όχι απαραίτητα να ποσοτικοποιηθεί ^[118]. Το όριο ανίχνευσης μπορεί να υπολογιστεί από την καμπύλη βαθμονόμησης και από το σήμα θορύβου του μηχανήματος. Προϋπόθεση είναι να χρησιμοποιείται οργανολογία που παρέχει θόρυβο υποβάθρου (baseline noise), όπως είναι ο αέριος χρωματογράφος ^[124]:

Ο υπολογισμός του LOD μέσω της καμπύλης βαθμονόμησης ακολουθεί τον τύπο:

$$\text{LOD} = 3,3 * (\sigma / s)$$

Όπου,

σ : τυπική απόκλιση τεταγμένης επί την αρχή (SD Intercept)

s: η κλίση της καμπύλης βαθμονόμησης (Slope)

Ο υπολογισμός του LOD από το σήμα υποβάθρου στηρίζεται στην αναλογία του σήματος της κορυφής προς τον θόρυβο του μηχανήματος (signal to noise). Ο προσδιορισμός της αναλογίας σήματος προς θόρυβο πραγματοποιείται με σύγκριση των σημάτων που προκύπτουν από την ανάλυση δειγμάτων με γνωστές χαμηλές συγκεντρώσεις αναλύτη και των τυφλών δειγμάτων. Η συγκέντρωση στην οποία ο λόγος σήματος προς θόρυβο ισούται με 3:1 είναι αποδεκτή ως ελάχιστη συγκέντρωση στην οποία ο αναλύτης ανιχνεύεται αξιόπιστα ^[124].

8β) Όριο Ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification)

Το όριο ποσοτικοποίησης είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση ενός αναλύτη του δείγματος που μπορεί να μετρηθεί με ακρίβεια και πιστότητα σύμφωνα με την μέθοδο ^[125]. Θεωρείται ότι αντιστοιχεί στο χαμηλότερο σημείο της καμπύλης βαθμονόμησης και πρέπει να προσαρμόζεται στις αναμενόμενες συγκεντρώσεις. Για τον υπολογισμό του, χρησιμοποιείται η σχέση ^[124]:

$$\text{LOQ} = 10 * (\sigma / s)$$

Όπου,

σ : τυπική απόκλιση τεταγμένης επί την αρχή (SD Intercept)

s : η κλίση της καμπύλης βαθμονόμησης (Slope)

Ακόμη μπορεί να χρησιμοποιηθεί η σχέση:

$$\text{LOQ} = 3 * \text{LOD}$$

Τέλος, ένας ακόμα τρόπος για τον υπολογισμό του LOQ είναι μέσω του λόγου σήματος προς θόρυβο (signal-to-noise). Η συγκέντρωση στην οποία ο λόγος είναι 10:1, θεωρείται το όριο ποσοτικοποίησης.

9) Σταθερότητα (Stability)

Η σταθερότητα ενός αναλύτη είναι ο έλεγχος της λειτουργικότητας ενός αναλύτη σε ένα συγκεκριμένο υπόστρωμα υπό καθορισμένες συνθήκες και για δεδομένα χρονικά διαστήματα. Η εκτίμηση της σταθερότητας έχει ως στόχο την επιβεβαίωση ότι κάθε τεχνική που ακολουθείται στην μεθοδολογία και οι συνθήκες διατήρησης των δειγμάτων

δεν επηρεάζουν τη συγκέντρωση των προσδιοριζόμενων ουσιών. Συνήθως, η σταθερότητα ενός αναλύτη εξετάζεται μέσω προσδιορισμού εμβολιασμένων δειγμάτων, υπολογίζοντας την μέση συγκέντρωση σε κάθε επίπεδο με τους εξής τρόπους^[124, 125]:

- Έλεγχος σταθερότητας κύκλων κατάψυξης-απόψυξης (Freeze-thaw stability), η οποία ελέγχει την σταθερότητα ενός αναλύτη μετά από 3 κύκλους κατάψυξης και απόψυξης
- Έλεγχος σταθερότητας μετά την προκατεργασία (Post preparation stability), η οποία εξετάζει την σταθερότητα του αναλύτη σε επεξεργασμένα δείγματα
- Έλεγχος μακροπρόθεσμης σταθερότητας (Long-term stability), η οποία εξετάζει την σταθερότητα του αναλύτη σε θερμοκρασία κατάψυξης (-18°C) για διάστημα εβδομάδων ή μηνών
- Έλεγχος βραχυπρόθεσμης σταθερότητας (Short-term stability), η οποία εξετάζει τη σταθερότητα του αναλύτη σε θερμοκρασία δωματίου για διάστημα ωρών (4-24 ώρες) και επιπλέον την σταθερότητα σε θερμοκρασία συντήρησης (4°C) για διάστημα μερικών ημερών.
- Έλεγχος σταθερότητας πρότυπων διαλυμάτων (Stock solution stability), η οποία εξετάζει την σταθερότητα των πρότυπων διαλυμάτων σε θερμοκρασία δωματίου για χρονικό διάστημα 6 ωρών.

Β΄ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός της πειραματικής διαδικασίας είναι η ανάπτυξη και η επικύρωση μεθόδων για τον προσδιορισμό των παραπροϊόντων απολύμανσης, που μπορεί να βρίσκονται στο θαλάσσιο έρμα ως αποτέλεσμα της επεξεργασίας του με μεθόδους χλωρίωσης. Στην παρούσα εργασία, οι αναλυτικές μέθοδοι που αναπτύχθηκαν και επικυρώθηκαν πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση: αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων για τον προσδιορισμό των αλογονομεθανίων και των αλογονοξικών οξέων, φασματοφωτομετρίας για τον προσδιορισμό του διοξειδίου του χλωρίου, και ογκομετρικής ανάλυσης για τον προσδιορισμό των χλωριωδών και των χλωρικών ιόντων. Συνολικά αναπτύχθηκαν και επικυρώθηκαν μέθοδοι για τον ποσοτικό προσδιορισμό 23 ενώσεων, που σύμφωνα με την βιβλιογραφία, απαντώνται ως παραπροϊόντα απολύμανσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Φωτομετρικός Προσδιορισμός Διοξειδίου του Χλωρίου

1.1. Υλικά και Μέθοδοι

Ο προσδιορισμός του διοξειδίου του χλωρίου, έγινε φωτομετρικά με εφαρμογή της μεθόδου Chlorine Dioxide (DPD Method) ^[129] και χρήση του φασματοφωτομέτρου DR2800 της εταιρείας Hach.



Εικόνα 35. Φασματοφωτόμετρο DR-2800 της Hach

Για την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων για τη διαδικασία φωτομέτρησης χρησιμοποιήθηκαν τα εξής αντιδραστήρια:

- Potassium iodate (KIO_3) 98% (Alfa Aesar)
- Potassium iodide (KI) (Sigma Aldrich)
- Sodium hydroxide (NaOH) pellets for GR analysis 99-100% (Merck)
- Sulfuric acid (H_2SO_4) 0.5 mol/L (1N) (Panreac)
- Glycine Reagent 10%
- DPD Free Chlorine powder pillow

Τα όργανα, μικροόργανα και εργαστηριακά αναλώσιμα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας (Shimadzu, UniBlockAUW120D)
- Διακριβωμένη πιπέτα BIOHIT 100-1000 mL
- Διακριβωμένη πιπέτα BIOHIT 10-100 mL
- Ρύγχι πιπέτας 0.1 και 1 mL
- Ογκομετρικές φιάλες των 50, 100, 500 και 1000mL
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 25, 50 και 100mL
- Υάλινα βαθμονομημένα σιφόνια των 2 και 10 mL
- Πώματα (stopper for 18 mm)
- Υάλινες κυψελίδες 1 mm, 10 mL
- Απιονισμένο νερό

1.2. Πειραματική πορεία

1.2.1. Παρασκευή διαλυμάτων

1. Πρότυπο διάλυμα NaOH 2M

Πραγματοποιήθηκε παρασκευή πρότυπου διαλύματος NaOH 2mol/L, με την προσθήκη 40g NaOH σε ογκομετρική φιάλη των 500mL και συμπλήρωση με απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου.

2. Πρότυπο διάλυμα H₂SO₄ 0.5M

Από διάλυμα H₂SO₄ 1N έγινε αραιώση 1:1 και συγκεκριμένα, μεταφέρθηκαν 50mL διαλύματος H₂SO₄ 1N σε ογκομετρική φιάλη των 100mL και προστέθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

3. Διάλυμα παρακαταθήκης KIO₃ 1.005g/L

Έγινε η παρασκευή διαλύματος παρακαταθήκης (stock solution) KIO₃, με προσθήκη 0.5025 g KIO₃ σε ογκομετρική φιάλη των 500mL και συμπλήρωση με απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου. Το διάλυμα που προκύπτει, μπορεί να διατηρηθεί υπό ψύξη για διάστημα 4 εβδομάδων.

4. Πρότυπο διάλυμα KIO₃/ KI

Μεταφέρονται 5.25mL KIO₃ σε ογκομετρική φιάλη των 500mL. Ζυγίζονται και προστίθενται 0,0.55g KI. Ακολουθεί ανάδευση μέχρι πλήρους διάλυσης και συμπληρώνεται απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου. Το διάλυμα εργασίας που προκύπτει, αποθηκεύεται σε σκουρόχρωμη φιάλη υπό ψύξη με μέγιστο χρόνο διατήρησης 5 ώρες.

5. Πρότυπο διάλυμα ClO₂ 4mg/L

Για την παρασκευή πρότυπου διαλύματος διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 4mg/L, μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 100mL, 20mL διαλύματος KIO₃/ KI και προστέθηκαν 4mL H₂SO₄ 0.5mol/L. Με την προσθήκη H₂SO₄, το διάλυμα λαμβάνει κίτρινο χρώμα. Μετά από αναμονή 1 λεπτού, ακολουθεί εξουδετέρωση με προσθήκη πρότυπου διαλύματος NaOH 2mol/L, μέχρι το διάλυμα να γίνει άχρωμο. Από το συγκεκριμένο διάλυμα υλοποιήθηκαν οι κατάλληλες αραιώσεις για την παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων διοξειδίου του χλωρίου συγκεντρώσεων 0.5, 1 και 2 mg/L.

1.2.2. Φωτομετρική ανάλυση

Το εύρος δοκιμής της μεθόδου ορίζεται από 0.04 έως 5.00 mg ClO₂/L.

Τυφλό δείγμα

Χρησιμοποιήθηκαν 10mL απιονισμένου νερού, τα οποία μεταφέρθηκαν σε μία γυάλινη κυψελίδα 1mm των 10mL, χωρίς προσθήκη αντιδραστηρίων και ακολούθησε ο μηδενισμός του οργάνου.

Δείγματα προς φωτομέτρηση

Χρησιμοποιήθηκαν ογκομετρικές φιάλες των 50 mL, στις οποίες μεταφέρθηκαν 25mL πρότυπου διαλύματος διοξειδίου του χλωρίου. Στην συνέχεια προστέθηκαν στο δείγμα 10 σταγόνες αντιδραστηρίου Glycine Reagent 10% και ακολούθησε ήπια ανάδευση. Προστέθηκε στο δείγμα το περιεχόμενο ενός φακέλου DPD Free Chlorine powder pillow, ακολούθησε ήπια ανάδευση και αναμονή 30 sec. Μεταφέρθηκαν 10mL δείγματος σε γυάλινη κυψελίδα και πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 530nm στο πρόγραμμα 76 του φωτομέτρου DR2800.

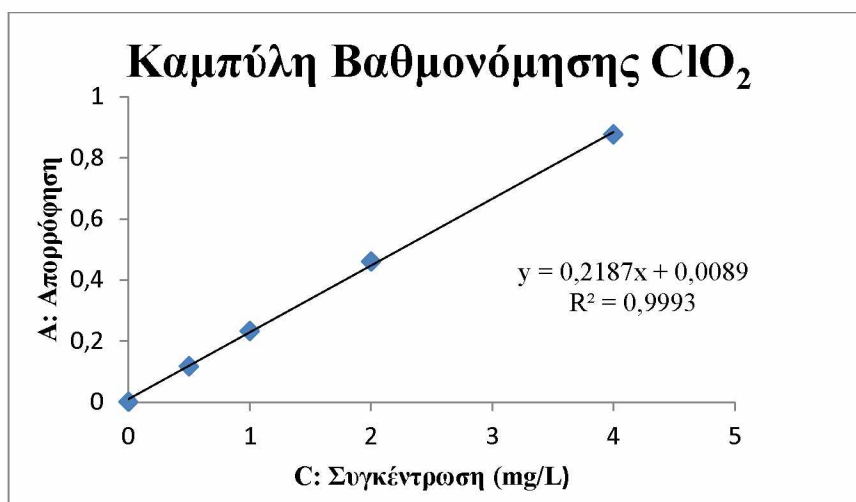
Η γλυκίνη προστίθεται στο δείγμα διότι έχει την ικανότητα να αντιδρά με το χλώριο που μπορεί να υπάρχει στο δείγμα, σχηματίζοντας χλωροαμινοξικό οξύ (Chloroaminoacetic acid). Το χλωροαμινοξικό οξύ που σχηματίζεται δεν αντιδρά με το DPD, με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν παρεμποδίσεις από το χλώριο στη μέτρηση του διοξειδίου του χλωρίου. Αν το δείγμα περιέχει διοξείδιο του χλωρίου, τότε με την προσθήκη του αντιδραστηρίου DPD (N, N-diethyl-p-phenylenediamine) το δείγμα αποκτάει ένα ροζ χρώμα. Εάν η συγκέντρωση διοξειδίου του χλωρίου στο δείγμα υπερβαίνει το ανώτερο όριο της δοκιμής, το χρώμα μπορεί να εξασθενίσει ή το δείγμα μπορεί να αποκτήσει κίτρινο χρώμα.



Εικόνα 36. Χρωματισμός δείγματος ανάλογα με την συγκέντρωση διοξειδίου του χλωρίου.

1.3. Γραμμικότητα, επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα μεθόδου

Για τον έλεγχο της γραμμικότητας της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε πρότυπα διαλύματα διοξειδίου του χλωρίου συγκεντρώσεων 0,5, 1, 2 και 4 mg/L, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν και για την κατασκευή καμπύλης βαθμονόμησης. Επιπλέον, για την καμπύλη λήφθηκε υπόψη και το τυφλό δείγμα.



Εικόνα 37. Καμπύλη βαθμονόμησης ClO₂ συγκεντρώσεων 0, 0,5, 1 και 2 mg/L

Για τον έλεγχο της ακρίβειας της μεθόδου, πραγματοποιήθηκαν 5 μετρήσεις πρότυπων διαλυμάτων 0,5, 1 και 2mg ClO₂/L, όπου διαπιστώθηκε ότι παρουσιάζεται αποδεκτή ακρίβεια. Για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας, έγιναν σε μία ημέρα 10 μετρήσεις σε πρότυπο δείγμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 2 mg/L. Για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγιμότητας, πραγματοποιήθηκαν σε διάστημα δύο ημερών συνολικά 10 μετρήσεις σε πρότυπο δείγμα διοξειδίου του χλωρίου, συγκέντρωσης 2 mg/L. Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν ο μέσος όρος, η τυπική απόκλιση (SD), η σχετική τυπική απόκλιση (RSD) και ο συντελεστής μεταβλητότητας (CV%) των μετρήσεων. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στους Πίνακες 4, 5 και 6, αντίστοιχα.

Πίνακας 4. Αποτελέσματα ελέγχου ακρίβειας της μεθόδου σε πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης 0,5, 1 & 2mg/L ClO₂

Αριθμός μετρήσεων	0,5 mg/L ClO ₂	1 mg/L ClO ₂	2mg/L ClO ₂
1	0,47	0,97	1,83
2	0,45	0,93	2,04
3	0,41	0,89	1,91
4	0,49	1,01	1,83
5	0,48	0,94	1,91
Mean	0,46	0,948	1,904
SD	0,03	0,045	0,086
RSD	0,07	0,047	0,045
CV%	6,87	4,74	4,51
Accuracy%	92	94,8	95,2
Bias%	-8	-5,2	-4,8

Πίνακας 5. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 2 mg/L

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ:	~2,00 mg/L
ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (mg/L)
1	1,83
2	2,04
3	1,91
4	1,83
5	1,91
6	1,88
7	1,90
8	1,85
9	1,79
10	1,74
ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (Mean)	1,87
ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (SD)	0,08
ΣΧΕΤΙΚΗ ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (RSD)	0,04
CV%	4,37

Πίνακας 6. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 2 mg/L

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ:	~2,00 mg/L
ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (mg/L)
1	1,83
2	2,04
3	1,91
4	1,83
5	1,91
6	1,71
7	1,83
8	1,83
9	1,74
10	1,91
ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (Mean)	1,85
ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (SD)	0,09
ΣΧΕΤΙΚΗ ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (RSD)	0,051
CV%	5,09

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Ογκομετρικός Προσδιορισμός Χλωριωδών και Χλωρικών Ιόντων

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε βασίζεται σε εσωτερική μέθοδο ογκομετρικού προσδιορισμού χλωριωδών και χλωρικών ιόντων της εταιρίας Hach ^[130].

2.1. Υλικά και Μέθοδοι

Τα όργανα και εργαστηριακά αναλώσιμα που χρησιμοποιήθηκαν για τον ογκομετρικό προσδιορισμό χλωριωδών και χλωρικών ιόντων είναι:

- Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας (Shimadzu, UniBlock AUW120D)
- Πεχάμετρο με ηλεκτρόδιο υάλου (Consort C800)
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Διακριβωμένη πιπέτα BIORHIT 100-1000 mL
- Γυάλινο ποτήρι ζέσεως των 500mL
- Ρύγχι πιπέτας 0.1 και 1 mL
- Υάλινη διακριβωμένη προχοΐδα

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- Διάλυμα Phenyl Arsine Oxide (PAO), 0.00564 N (eq/L) (Hach)
- Διάλυμα Υδροχλωρικού οξέος (HCl), 2.5 N (Hach)
- Ρυθμιστικό διάλυμα (buffer solution) pH 7 (Panreac)
- Ιωδιούχο Κάλιο (KI) $\geq 99,5\%$ (Sigma-Aldrich)
- Πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου (ClO_2) 400mg/L
- Απιονισμένο νερό

2.2. Πειραματική Πορεία

Η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε, ξεκινάει με την παρασκευή πρότυπου διαλύματος διοξειδίου του χλωρίου, συνεχίζεται με την ογκομέτρηση του διαλύματος και ολοκληρώνεται με τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων.

2.2.1. Παρασκευή διαλυμάτων

Τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή πρότυπου διαλύματος διοξειδίου του χλωρίου, έγιναν ακολουθώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται στην ενότητα 1.2. του Πειραματικού μέρους. Συγκεκριμένα, για την παρασκευή διαλύματος διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 400 mg/L, μεταφέρθηκαν σε μία ογκομετρική φιάλη του 1L, 200 mL διαλύματος KIO_3/KI και προστέθηκαν 40mL H_2SO_4 0.5mol/L. Με την προσθήκη H_2SO_4 το διάλυμα λαμβάνει κίτρινο χρώμα. Μετά την αναμονή 1 λεπτού ακολούθησε η εξουδετέρωση με την προσθήκη πρότυπου διαλύματος NaOH

2mol/L, μέχρι το διάλυμα να γίνει άχρωμο και τέλος προστέθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

2.2.2. Ογκομετρικός προσδιορισμός του δείγματος

Σε ποτήρι ζέσεως μεταφέρονται 200mL δείγματος (θαλάσσιου έρματος, πρότυπου διαλύματος), προστίθενται 1mL ρυθμιστικού διαλύματος με pH=7 (Panreac) και 1g KI. Αναδεύονται για την διάλυση του KI και έπειτα γίνεται η μέτρηση του pH του διαλύματος. Σε μία προχοΐδα προστίθεται το διάλυμα τιτλοδότησης (PAO). Ακολουθεί η ογκομέτρηση του δείγματος με ταυτόχρονη ανάδευση, μέχρι να σταθεροποιηθεί το pH του δείγματος. Σημειώνεται η διαφορά του όγκου του τιτλοδότη που καταναλώθηκε, ο οποίος συμβολίζεται ως A. Στη συνέχεια προστίθεται στο δείγμα 2mL HCl και γίνεται εκ νέου η μέτρηση του pH. Το δείγμα αφήνεται σε σκοτεινό περιβάλλον για 5 min, ώστε να σταθεροποιηθεί το pH. Μετά το πέρας των 5min ακολουθεί η ογκομέτρηση του δείγματος με ταυτόχρονη ανάδευση και μέτρηση του pH. Σημειώνεται ο τελικός όγκος του τιτλοδότη που καταναλώθηκε και συμβολίζεται ως B.

Στη συνέχεια υπολογίζεται η συγκέντρωση των χλωριωδών ιόντων (ClO_2^-) σύμφωνα με τον τύπο:

$$[\text{ClO}_2^-] = B \cdot N \cdot 16.863 \text{ (mg/L) (I)}$$

Όπου,

B: ο όγκος του τιτλοδότη που καταναλώθηκε στην δεύτερη ογκομέτρηση

N: η συγκέντρωση του τιτλοδότη (0,00564 N)

Η συγκέντρωση των χλωρικών ιόντων (ClO_3^-) στο δείγμα γίνεται υπολογιστικά με αναγωγή και τη χρήση της μοριακής μάζας (Mr).

Mr (ClO_2^-)=67,5

Mr (ClO_3^-)=83,5

2.3. Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου

Για τον έλεγχο της ακρίβειας της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν 5 τιτλοδοτήσεις πρότυπου διαλύματος 400mg/L ClO_2 . Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης χλωριωδών ιόντων, η μέθοδος παρουσιάζει 97,96% ακρίβεια με αρνητικό σφάλμα (bias) -2,04%. Τα αποτελέσματα για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των χλωρικών ιόντων έδειξαν ότι η μέθοδος παρουσιάζει ακρίβεια 117,49% και θετικό σφάλμα (bias) 17,49%. Για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας, έγιναν σε μία ημέρα 10 μετρήσεις σε πρότυπο δείγμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 400mg/L. Για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγιμότητας, πραγματοποιήθηκαν σε διάστημα δύο ημερών συνολικά 10 μετρήσεις σε πρότυπο δείγμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 400mg/L. Η συγκέντρωση των χλωριωδών ιόντων υπολογίστηκε βάσει του τύπου (I), ενώ η συγκέντρωση των χλωρικών ιόντων υπολογίστηκε με αναγωγή σύμφωνα με τη μοριακή μάζα των ιόντων. Στη συνέχεια υπολογίστηκαν ο μέσος όρος, η τυπική απόκλιση (SD), η σχετική τυπική απόκλιση (RSD) και ο συντελεστής μεταβλητότητας (CV%) των μετρήσεων. Τα

αποτελέσματα για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας και της αναπαραγωγιμότητας φαίνονται στους Πίνακες 7 και 8, αντίστοιχα.

Πίνακας 7. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 400 mg/L

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ClO_2		~400mg/L	
Αριθμός μετρήσεων	Καταναλώμενος όγκος τιτλοδότη (mL)	Αποτέλεσμα ClO_2^- (mg/L)	Αποτέλεσμα ClO_3^- (mg/L)
1	4,2	399,45	494,14
2	4,2	399,45	494,14
3	4,2	399,45	494,14
4	4,2	399,45	494,14
5	4,1	389,94	482,37
6	4,4	418,47	517,67
7	4,3	408,96	505,90
8	4,3	408,96	505,90
9	4,2	399,45	494,14
10	4,2	399,45	494,14
ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (Mean)		402,30	497,66
ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (SD)		7,83	9,69
ΣΧΕΤΙΚΗ ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (RSD)		0,019	0,019
% CV		1,95	1,95

Πίνακας 8. Μετρήσεις για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγιμότητας σε πρότυπο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου συγκέντρωσης 400 mg/L

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ClO_2		~400 mg/L	
Αριθμός μετρήσεων	Καταναλώμενος όγκος τιτλοδότη (mL)	Αποτέλεσμα ClO_2^- (mg/L)	Αποτέλεσμα ClO_3^- (mg/L)
1	4,2	399,45	494,14
2	4,2	399,45	494,14
3	4,2	399,45	494,14
4	4,2	399,45	494,14
5	4,1	389,94	482,37
6	4,4	418,47	517,67
7	4,4	418,47	517,67
8	4,3	408,96	505,90
9	4,4	418,47	517,67
10	4,3	408,96	505,90
ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (Mean)		406,11	502,37
ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (SD)		10,08	12,46
ΣΧΕΤΙΚΗ ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (RSD)		0,025	0,025
% CV		2,48	2,48

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Χρωματογραφικός Προσδιορισμός Οργανοαλογονομένων Παραπροϊόντων Απολύμανσης με Αέρια Χρωματογραφία με Ανιχνευτή Σύλληψης Ηλεκτρονίων

3.1. Υλικά και μέθοδοι

Οργανολογία

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των τριαλογονομεθανίων και των αλογονοξικών οξέων είναι σύστημα αέριας χρωματογραφίας με ^{63}Ni ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (Clarus 580 GC-ECD-NPD). Η τριχοειδής στήλη Elite -5-MS, 30m x 0,25 mm I.D. x 0,25 μm (crossbond 5% diphenyl, 95% dimethyl polysiloxane) χρησιμοποιήθηκε για τις αναλύσεις. Οι εγχύσεις έγιναν με αυτόματο δειγματολήπτη της εταιρίας PerkinElmer, σε splitless και σε split mode. Ως φέρον αέριο (carrier gas) χρησιμοποιήθηκε He (99,999% καθαρότητα) και ως make-up gas N_2 (99,996% καθαρότητα).



Εικόνα 38. Απεικόνιση αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD) [131].

Συσκευές και μικροόργανα

- Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας (Shimadzu, UniBlock AUW120D)
- Συσκευή ανάδευσης vortex (ZX3, Velp Scientifica)
- Υδατόλουτρο (WNE-45, Memmert)

- Φιαλίδια: 20 mL Cl R- bottomed 18 mm screw top Headspace vial 23*75 mm (Chromatography Direct)
- Καπάκια: 18 mm metal screw caps with ULB blue sil/white PTFE Septa (Chromatography Direct)
- Φιαλίδια: 4 mL Clear screw top vial, 15*45 mm (Chromatography Direct)
- Καπάκια: screw caps with ULB white sil/red PTFE Septa (Chromatography Direct)
- Φιαλίδια χωρητικότητας 2 και 4mL (Perkin Elmer)
- Μικροσύριγγες 10, 100, 500μl (Thermo Scientific)
- Μικροσύριγγα 10 μl (SGE)
- Βαθμονομημένα σιφώνια μιας χρήσεως 10mL
- Υάλινα βαθμονομημένα σιφώνια 1, 2 και 10mL
- Υάλινες ογκομετρικές φιάλες 50 και 100mL

Αντιδραστήρια και εργαστηριακά αναλώσιμα

- Πεχαμετρικές ταινίες (pH 0-6.0), (Merck)
- Glass Wool, Silane Treated, 50 grams (Supelco)
- Απιονισμένο νερό

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των αλογονοξικών οξέων ήταν:

- Πενταένυδρος θεικός χαλκός ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), ACS Reagent, 99-102% (Fluka)
- Όξινο ανθρακικό νάτριο (NaHCO_3), ACS Reagent $\geq 99,7\%$ (Fluka)
- Θεικό νάτριο (Na_2SO_4), A.C.S. reagent anhydrous $\geq 99,0$ granular (Sigma Aldrich)
- Θεικό οξύ (H_2SO_4), ACS Reagent, 98% (Hach)
- Μεθανόλη (CH_3OH) for HPLC $\geq 99,9\%$ (Sigma-Aldrich)

Πρότυπα διαλύματα και διαλύτες

Τα πρότυπα διαλύματα και ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των αλογονοξικών οξέων ήταν:

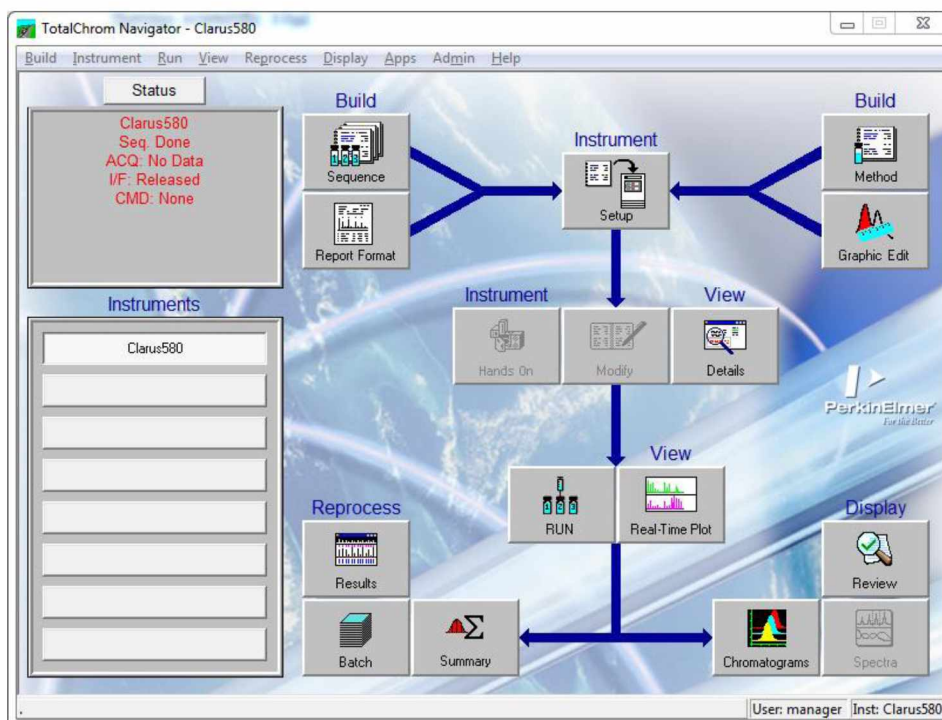
- EPA 552.2 Haloacetic Acids Mix, 2000μg/mL σε MtBE (Supelco)
- 2,3-Dibromopropionic acid σε MtBE, 1000μg/mL (Supelco)
- 1,2,3-Trichloropropane σε μεθανόλη, 200μg/mL (Supelco)
- Διαλύτης τριτοταγής-βουτυλ-μεθυλαιθέρας (tert-Butyl methyl ether, MtBE), for HPLC $\geq 99,8\%$ (Chromasolv)

Το πρότυπο διάλυμα και ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των τριαλογονομεθανίων ήταν:

- Πρότυπο μείγμα 10 οργανοχλωριωμένων ενώσεων και τριαλογονομεθανίων σε διαλύτη ακετόνη, 2.000μg/mL (Agilent)
- Διαλύτης hexane $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich)

3.2. Λογισμικό διαχείρισής του οργάνου Clarus 580 GC-ECD-NPD, παραλαβής και επεξεργασίας των χρωματογραφικών δεδομένων

Η ανάλυση και η επεξεργασία των χρωματογραφημάτων έγινε με το λογισμικό πρόγραμμα TotalChrom Navigator-Clarus 580 της εταιρείας PerkinElmer, η αρχική εικόνα του οποίου φαίνεται παρακάτω (Εικόνα 40).



Εικόνα 39. Αρχική εικόνα γραμμής εργαλείων του λογισμικού TotalChrom Navigator.

Το πρόγραμμα παρέχει ένα περιβάλλον εργασίας εφαρμογών και μία γραμμή εργαλείων με πληροφορίες και διάφορες δυνατότητες:

- Status: δείχνει την κατάσταση του προγράμματος
- Build Sequence: δημιουργία μίας ακολουθίας δειγμάτων προς ανάλυση
- Build Method: δημιουργία μίας μεθόδου ανάλυσης
- Instrument setup: παρέχει τη δυνατότητα επιλογής build method και build sequence
- Graphic Edit: παρέχει τη δυνατότητα επεξεργασίας χρωματογραφήματος (επιλογή παραμέτρων ολοκλήρωσης κορυφών, χειροκίνητη ολοκλήρωση κορυφών)
- Real-Time Plot: προβολή χρωματογραφήματος σε πραγματικό χρόνο
- Chromatograms: παρέχει τη δυνατότητα προβολής και σύγκρισης πολλών χρωματογραφημάτων στα οποία δεν έχουν ολοκληρωθεί οι κορυφές αυτών
- Review: προβάλλει όλες τις πληροφορίες ενός επιλεγμένου χρωματογραφήματος (όνομα ένωσης, σειρά και χρόνος έκλουσης, εμβαδόν και σήμα κορυφών)
- Report Format: δυνατότητα δημιουργίας και εξαγωγής αναφοράς που παρέχει όλες τις πληροφορίες για τις παραμέτρους της μεθόδου ανάλυσης και τα αποτελέσματα

Επιπλέον, μέσα από το λογισμικό πρόγραμμα, δίνεται η δυνατότητα κατασκευής καμπύλης βαθμονόμησης των ενώσεων και ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων των ενώσεων σε δείγματα μέσω της εξίσωσης της ευθείας.

3.3. Αξιολόγηση χρωματογράφηματος

Εκτός από την οπτική αξιολόγηση των χρωματογραφημάτων που προέκυψαν, αξιολογήθηκε και η διαχωριστική ικανότητα ή αλλιώς διαχωριστικότητα (Resolution, R). Η διαχωριστική ικανότητα είναι η ικανότητα της στήλης να διαχωρίζει συστατικά ενός διαλύματος που έχουν παρόμοια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Η διαχωριστική ικανότητα (R) μεταξύ δύο κορυφών δίνεται από τον τύπο:

$$R = 2(t_A - t_B) / W_A + W_B$$

Όπου, R : η διαχωριστική ικανότητα

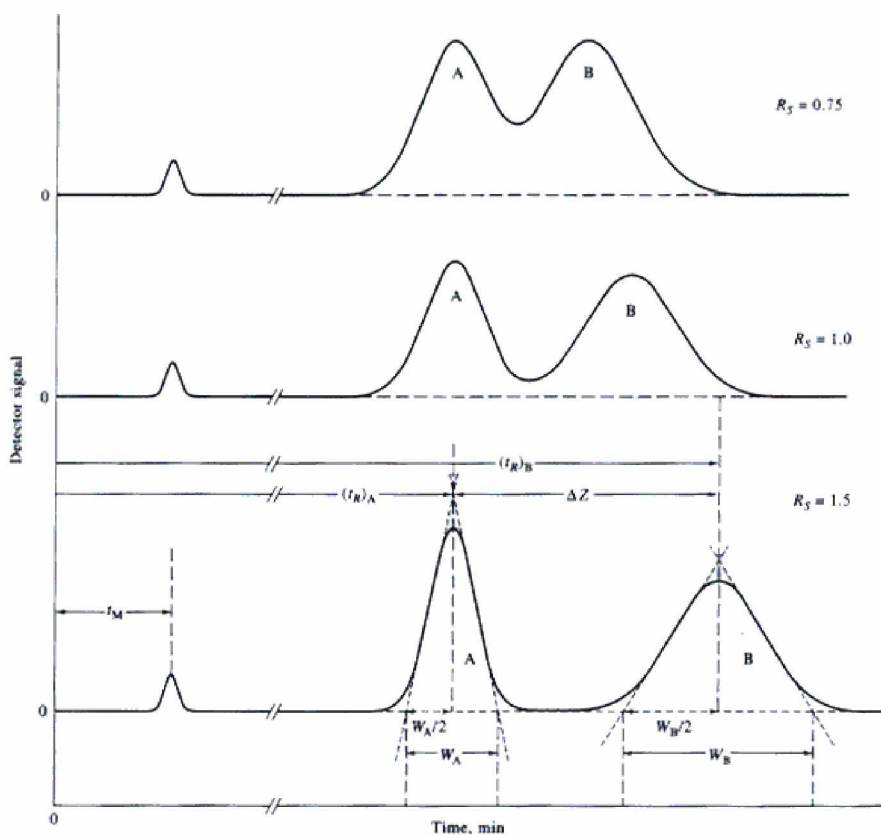
t_A : ο χρόνος έκλουσης μιας ουσίας A

t_B : ο χρόνος έκλουσης μιας ουσίας B

W_A : το πλάτος της κορυφής μιας ουσίας A στο χρωματογράφημα

W_B : το πλάτος της κορυφής μιας ουσίας B στο χρωματογράφημα

Αν η τιμή της διαχωριστικής ικανότητας είναι μεγαλύτερη από 1,5 τότε το προκύπτον χρωματογράφημα αντιστοιχεί σε ικανοποιητικό διαχωρισμό των αναλυτών. Αν η τιμή της διαχωριστικής ικανότητας είναι ίση με 1 τότε οι κορυφές αλληλοεπικαλύπτονται. Για την βελτίωση της διαχωριστικής ικανότητας είναι δυνατό να γίνουν αλλαγές στο θερμοκρασιακό πρόγραμμα της μεθόδου, στη χρωματογραφική στήλη είτε αλλαγές στην ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου.



Εικόνα 40. Διαχωρισμός χρωματογραφικών κορυφών ανάλογα με την διαχωριστική ικανότητα R_s ^[132]

3.4. Χρωματογραφικός Προσδιορισμός Τριαλογονομεθανίων

Πέρα από τα 4 τριαλογονομεθάνια (Chloroform, Bromodichloromethane, Dibromochloromethane, Bromoform) που πρέπει να ελέγχονται σύμφωνα με την αναφορά Vessel Discharge Sample Collection & Analytical Monitoring της EPA ^[84], αναλύθηκαν ακόμα 6 οργανοχλωριωμένα παραπροϊόντα απολύμανσης που σύμφωνα με την GESAMP, βρίσκονται στο επεξεργασμένο θαλάσσιο έρμα.

3.4.1. Πειραματική Πορεία

Η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε, βασίστηκε στις Πρότυπες Μεθόδους για την ανάλυση του νερού και των λυμάτων, ενότητα 6232 (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd edition, Section 6232). Για τον προσδιορισμό των αναλυτών, οι αναλύσεις αφορούν διαλύματα εργασίας, τα οποία παρασκευάζονται με προσθήκη πρότυπου διαλύματος σε διαλύτη εξάνιο.

3.4.1.1. Παρασκευή διαλυμάτων

1. Πρότυπα διαλύματα

Χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα των 10 οργανοχλωριωμένων ενώσεων και τριαλογονομεθανίων σε διαλύτη ακετόνη (Agilent) συγκέντρωσης 2000 μg/mL (Πίνακας 8). Το μείγμα οργανοχλωριωμένων ενώσεων αποθηκεύτηκε σε φιαλίδιο PerkinElmer χωρητικότητας 2 mL στους -19°C.

Πίνακας 9. Μείγμα οργανοχλωριωμένων ενώσεων και τριαλογονομεθανίων

A/A	Ένωση	Συγκέντρωση
1	Chloroform	2.000 μg/mL
2	1,1,1-Trichloroethane	2.000 μg/mL
3	Carbon tetrachloride	2.000 μg/mL
4	Trichloroethene	2.000 μg/mL
5	Bromodichloromethane	2.000 μg/mL
6	Tetrachloroethene	2.000 μg/mL
7	Dibromochloromethane	2.000 μg/mL
8	1,2-Dibromoethane	2.000 μg/mL
9	Bromoform	2.000 μg/mL
10	1,2-Dibromo-3-Chloropropane	2.000 μg/mL

2. Παρασκευή διαλυμάτων παρακαταθήκης

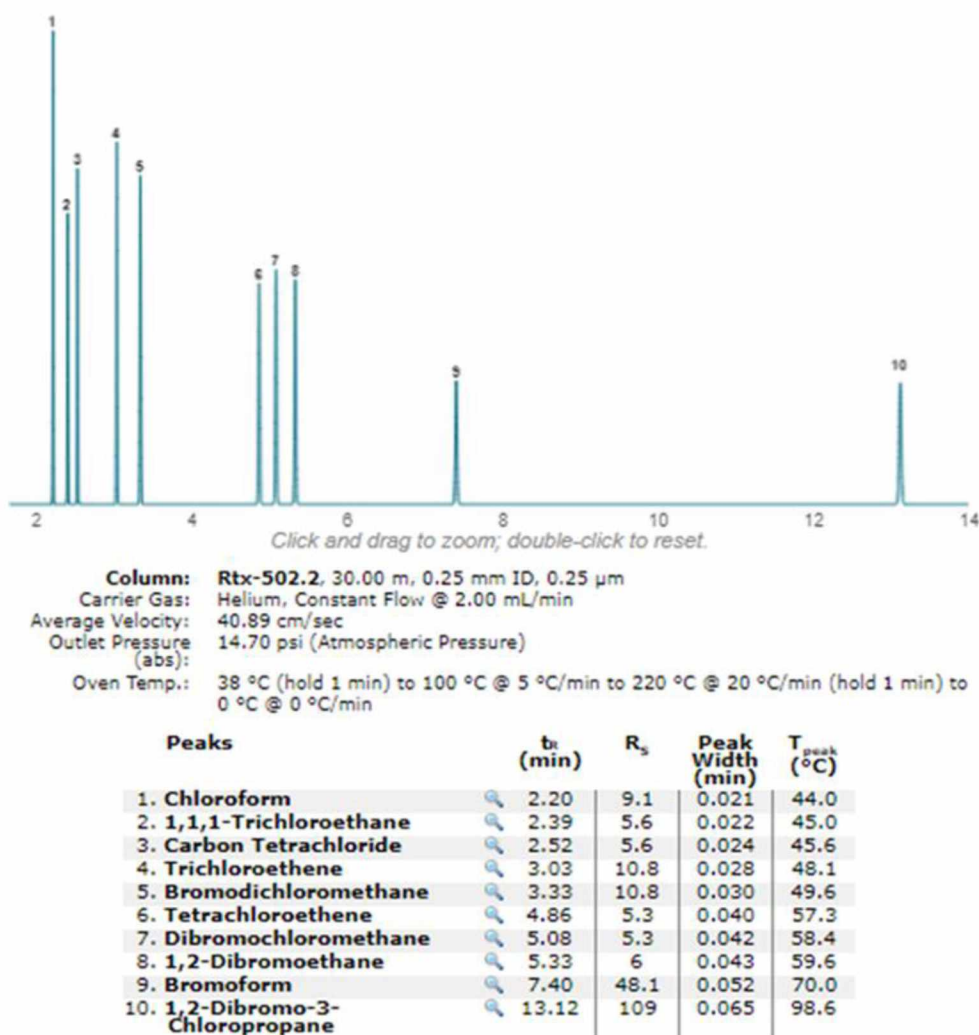
Από το πρότυπο διάλυμα παρασκευάστηκαν δύο διαλύματα παρακαταθήκης (stock solution) σε διαλύτη εξάνιο, 20 και 1mg/mL αντίστοιχα, τα οποία στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν σε φιαλίδια PerkinElmer χωρητικότητας 2mL στους -19°C. Η συγκέντρωση 1mg/mL χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή διαλυμάτων εργασίας, ενώ η συγκέντρωση 20mg/mL χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό δειγμάτων με στόχο τον έλεγχο της ανάκτησης των ενώσεων μετά την εκχύλιση υγρού – υγρού.

3. Παρασκευή διαλυμάτων εργασίας

Για την παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων εργασίας (work solution) ακολούθησαν αραιώσεις από το διάλυμα παρακαταθήκης 1mg/mL, σε διαλύτη εξάνιο και σε τελικό όγκο 1mL. Τα αραιωμένα διαλύματα που παρασκευάστηκαν ήταν της συγκέντρωσης των 500 και 20μg/mL καθώς και διαλύματα συγκέντρωσης 100, 80, 60, 40 και 20ng/mL αντίστοιχα. Τα 500μg/mL χρησιμοποιήθηκαν για την αρχική ταυτοποίηση των ενώσεων.

3.4.1.2. Χρωματογραφική Ανάλυση

Σαν ένας εναλλακτικός τρόπος ταυτοποίησης των ουσιών, δηλαδή της επιβεβαίωσης της σειράς και του χρόνου έκλυσης των ενώσεων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό μοντελοποίησης χρωματογραφημάτων ProEZGC της πλατφόρμας Restek. Το λογισμικό αυτό, βάσει των παραμέτρων του πειράματος που επιλέγονται (τύπος χρωματογραφικής στήλης, θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου, ρυθμός αερίων) υπολογίζει το θεωρητικό χρόνο έκλυσης και το αντίστοιχο χρωματογράφημα των επιθυμητών αναλυτών (Εικόνα 42).



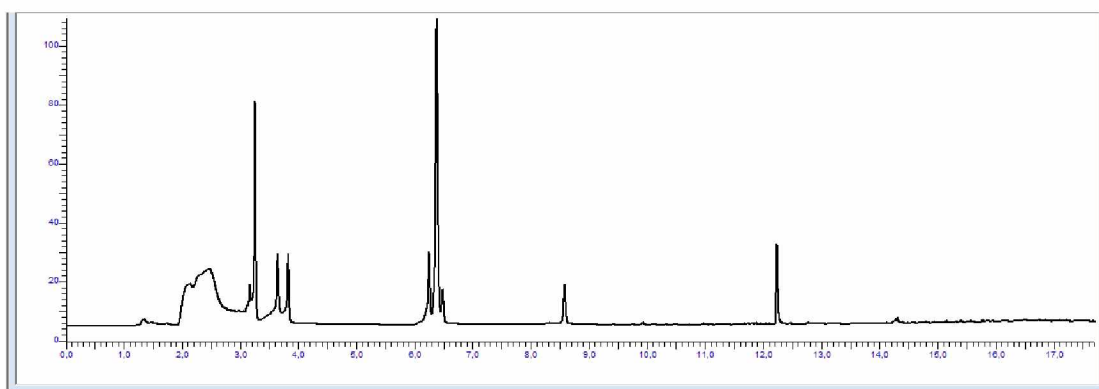
Εικόνα 41. Θεωρητικό χρωματογράφημα των ενώσεων και οι χρόνοι έκλυσης σύμφωνα με το λογισμικό μοντελοποίησης χρωματογραφημάτων ProEZGC της Restek [133]

Επιλογή βέλτιστων συνθηκών για τον διαχωρισμό των αναλυτών

Στη συνέχεια περιγράφεται η πειραματική πορεία της βελτίωσης της απόδοσης της μεθόδου που επιλέχθηκε.

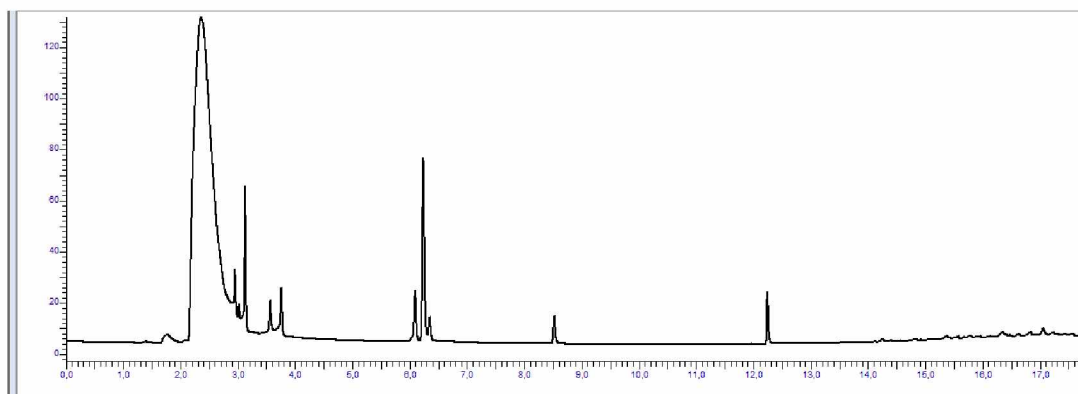
Ανάλυση σε splitless mode

Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 250°C αρχικά χωρίς διαμοιρασμό (splitless) για 1min και στη συνέχεια με διαμοιρασμό (split) 49:1. Το φέρον αέριο είχε ρυθμό ροής 2mL/min. Η θερμοκρασία του φούρνου ξεκινούσε από 38°C για 5min, ανέβηκε με ρυθμό 10°C/min στους 70°C για 1min και έφτανε στους 220°C για 1min με ρυθμό 20°C/min. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ήταν 320°C και το make-up gas είχε ροή 30mL/min. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 17.7min.



Εικόνα 42. Χρωματογράφημα πρότυπου δείγματος 100 ppb με μέθοδο έγχυσης χωρίς διαμοιρασμό (splitless)

Η μέθοδος σε splitless mode απορρίφθηκε, καθώς όπως φαίνεται και στο προκύπτον χρωματογράφημα (Εικόνα 43) δεν υπήρχε καλός διαχωρισμός των αναλυτών. Ακόμα, κατά την πειραματική πορεία, για τον καλύτερο διαχωρισμό των αναλυτών, έγιναν δοκιμές με τη μέθοδο PTV (Programmable Temperature Vaporization) με τη χρήση GlassWool στο liner του εισαγωγέα. Η χρήση του απορρίφθηκε, καθώς ο διαχωρισμός των αναλυτών δεν βελτιώθηκε (Εικόνα 44), ενώ παράλληλα υπήρχε δυσκολία στο ρυθμό ροής του φέροντος αερίου, είτε με την ένδειξη της διαρροής (leak) είτε με την μη επίτευξη του επιλεγμένου ρυθμού ροής.

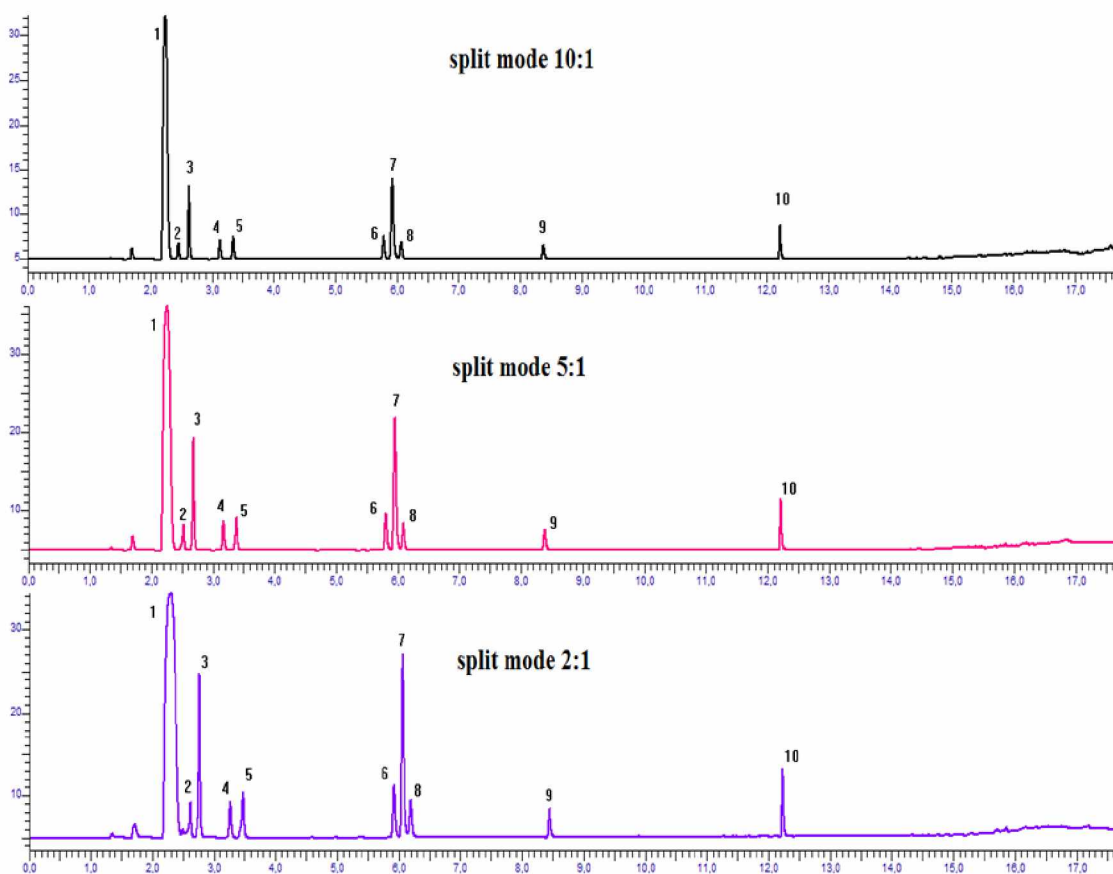


Εικόνα 43. Χρωματογράφημα που προέκυψε μετά τη χρήση Glass-Wool στο liner του εισαγωγέα

Ανάλυση σε split mode

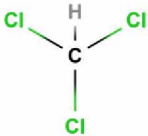
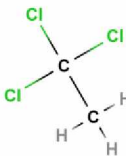
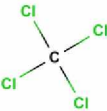
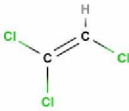
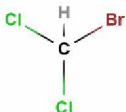
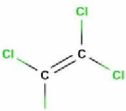
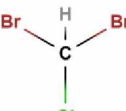
Για να επιτευχθεί ο καλύτερος διαχωρισμός των αναλυτών, οι συνθήκες αναλύσης όσον αφορά τον διαμορισμό, τροποποιήθηκαν. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 250°C και πραγματοποιήθηκαν πειράματα με διαμορισμό 10:1, 5:1 και 2:1 (Εικόνα 45). Το φέρον αέριο είχε ρυθμό ροής 2mL/min. Η θερμοκρασία του φούρνου ξεκινούσε από 38°C για 5min, με ρυθμό 10°C/min έφτανε στους 70°C για 1min και τέλος στους 220°C για 1min με ρυθμό 20°C/min. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ήταν 320°C και το make-up gas είχε ροή 30mL/min.

Οι πειραματικές δοκιμές που ακολούθησαν οδήγησαν στην απόρριψη χρήσης της μεθόδου με διαμορισμό 2:1 καθώς αποτελεί ακραία τιμή του εισαγωγέα και υπήρχε αυξημένη πιθανότητα σφάλματος κατά την επαναληψιμότητα της μεθόδου. Η χρήση της μεθόδου με διαμορισμό 10:1 απορρίφθηκε γιατί σε μικρές συγκεντρώσεις των αναλυτών ορισμένες ενώσεις είναι μη ανιχνεύσιμες. Επιλέχθηκε η χρήση της μεθόδου με διαμορισμό 5:1.

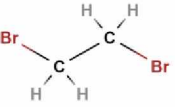
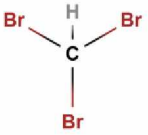
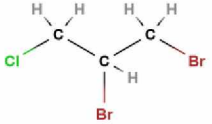


Εικόνα 44. Χρωματογράφημα των ενώσεων της μεθόδου με έγχυση διαμορισμού 10:1 (πάνω), 5:1 (μέση), 2:1 (κάτω) σε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 80 ppb, που χρησιμοποιήθηκε. Οι αριθμημένες κορυφές αντιστοιχούν στις αντίστοιχες ενώσεις: 1. Chloroform 2. 1,1,1-Trichloroethane 3. Carbontetrachloride 4. Trichloroethene 5. Bromodichloromethane 6. Tetrachloroethene 7. Dibromochloromethane 8. 1,2-Dibromoethane, 9. Bromoform 10. 1,2-Dibromo-3-Chloropropane

Πίνακας 10. Τριαλογονομεθάνια και οργανοχλωριωμένες ενώσεις που αναλύθηκαν (1)

Ένωση ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57]	Σημείο ζέσεως ^[57]	Πειραματικός χρόνος έκλυσης	Χρόνος έκλυσης σύμφωνα με ProEZGC της Restek ^[133]
Chloroform 	119,38 g/mol	61,2°C	2,25min	2,27 min
1,1,1-Trichloroethane 	133,4 g/mol	74°C	2,52min	2,49 min
Carbon tetrachloride 	153,82 g/mol	76,72°C	2,67 min	2,64 min
Trichloroethene 	131,4 g/mol	87,2°C	3,17min	3,29 min
Bromodichloromethane 	163,8 g/mol	90°C	3,37min	3,70 min
Tetrachloroethene 	165,83 g/mol	121,1°C	5,80min	6,04 min
Dibromochloromethane 	208,28 g/mol	119-120°C	5,94min	6,32 min

Πίνακας 11. Τριαλογομεθάνια και οργανοχλωριωμένες ενώσεις που αναλύθηκαν (2)

Ένωση ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57]	Σημείο ζέσεως ^[57]	Πειραματικός χρόνος έκλυσης	Χρόνος έκλυσης σύμφωνα με ProEZGC της Restek ^[133]
1,2-Dibromoethane 	187.86 g/mol	131°C	6,08min	6,64 min
Bromoform 	252.73 g/mol	149,1°C	8,38min	8,84 min
1,2-Dibromo-3-chloropropane 	236,33 g/mol	196°C	12,22min	12,41 min

3.4.1.3. Επιλογή παραμέτρων της εκχύλισης υγρού-υγρού

Κατά τη διάρκεια της πειραματικής πορείας, προκειμένου να προσδιοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες απόδοσης της εκχύλισης υγρού-υγρού, ελέγχθηκαν πειραματικά ορισμένες παράμετροι. Οι παράμετροι αυτές αφορούν την θερμοκρασία στην οποία πραγματοποιείται η εκχύλιση υγρού-υγρού, τον χρόνο ηρεμίας/αναμονής για το διαχωρισμό των δύο φάσεων ώστε να επέλθει η ισορροπία στο δείγμα και την εξαλάτωση του δείγματος. Αναλύθηκαν σε κάθε περίπτωση 3 δείγματα απιονισμένου νερού, τα οποία εμβολιάστηκαν με ποσότητα προτύπου διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης και στη συνέχεια μελετήθηκε η ανάκτηση των ενώσεων. Η διαδικασία ξεκινά με τον εμβολιασμό δείγματος με 5μL από το πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 20mg/mL σε 10mL απιονισμένου νερού, σε φιαλίδιο Chromatography Direct χωρητικότητας 20mL. Η συγκέντρωση του δείγματος που προκύπτει είναι 100ng/mL. Στη συνέχεια προστίθεται στο φιαλίδιο 1mL εξανίου (hexane) και ακολουθεί η διαδικασία εκχύλισης υγρού-υγρού (LLE). Το δείγμα αναδεύεται με vortex για 1min σε 2.400 rpm και στη συνέχεια αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις. Με τη βοήθεια μίας γυάλινης μικροσύριγγας μεταφέρεται η οργανική φάση σε φιαλίδιο χωρητικότητας 2mL και ακολουθεί η χρωματογραφική ανάλυση. Μετά τη χρωματογραφική ανάλυση υπολογίστηκε η ανάκτηση (Recovery, R) κάθε ένωσης και η τυπική απόκλιση (SD) των μετρήσεων.

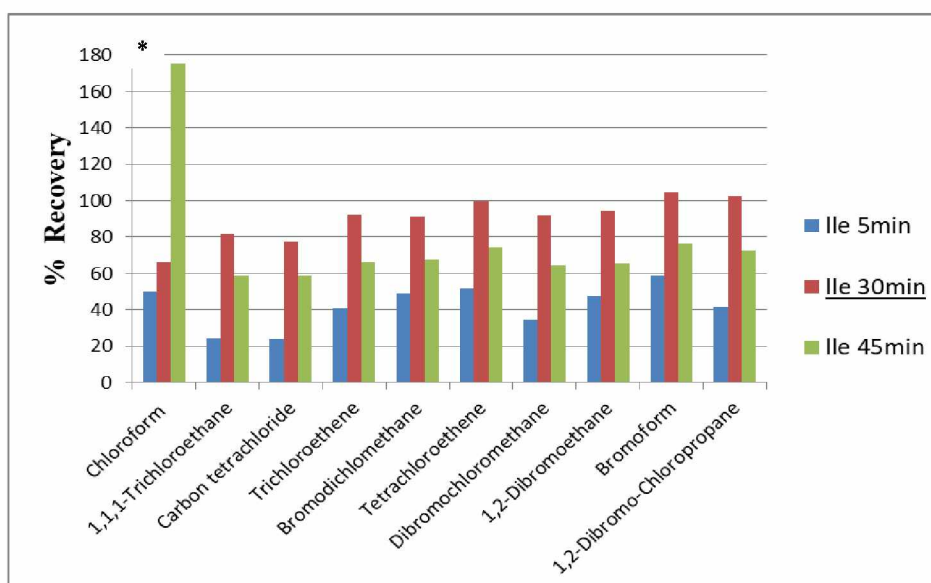
Εξάρτηση της απόδοσης απομόνωσης των αναλυτών με τη μέθοδο της εκχύλισης υγρού-υγρού από το χρόνο ηρεμίας για το διαχωρισμό των δύο φάσεων

Ζητούμενο είναι να διαπιστωθεί ο κατάλληλος χρόνος ηρεμίας στον οποίο η εκχύλιση των ουσιών από το διάλυμα στο διαλύτη παρουσιάζει ικανοποιητικά αποτελέσματα για την ανάλυση. Αναλύθηκαν σε κάθε περίπτωση 3 επαναλήψεις 100 ng/mL εμβολιασμένου δείγματος απιονισμένου νερού μετά από εκχύλιση με διαλύτη εξάνιο, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με χρόνο ηρεμίας 5, 30 και 45 min. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων φαίνονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12. Ανάκτηση αναλυτών μετά τις πειραματικές δοκιμές σε διαφορετικούς χρόνους ηρεμίας

Συγκέντρωση (100 ng/mL)	Ανάκτηση (%) ± SD σε 5 min	Ανάκτηση (%) ± SD σε 30 min	Ανάκτηση (%) ± SD σε 45 min
Chloroform	50,12 ± 13,80	65,87 ± 7,81	175,26 ± 17,65
1,1,1-Trichloroethane	24,51 ± 42,44	81,78 ± 3,33	58,35 ± 7,66
Carbon tetrachloride	23,72 ± 41,09	77,37 ± 4,01	58,44 ± 8,56
Trichloroethene	40,73 ± 36,65	92,40 ± 4,73	66,15 ± 9,49
Bromodichloromethane	48,70 ± 32,98	91,39 ± 5,13	67,90 ± 9,89
Tetrachloroethene	51,78 ± 47,78	99,79 ± 6,95	74,07 ± 12,36
Dibromochloromethane	34,73 ± 41,47	91,48 ± 9,00	64,27 ± 13,56
1,2-Dibromoethane	47,32 ± 30,69	94,32 ± 7,23	65,41 ± 12,42
Bromoform	58,73 ± 53,90	104,71 ± 8,86	76,18 ± 16,09
1,2-Dibromo-3-Chloropropane	41,35 ± 46,99	102,50 ± 13,15	72,54 ± 17,80

Όπως φαίνεται και στο γράφημα 1 τα αποτελέσματα δείχνουν ότι σε χρόνο αναμονής της εκχύλισης 30 min, παρέχονται καλύτερα ποσοστά για την ανάκτηση των ουσιών.



Γράφημα 1. Ανάκτηση των ουσιών σε διαφορετικό χρόνο ηρεμίας της εκχύλισης *ποσοστό που οφείλεται σε προσμίξεις

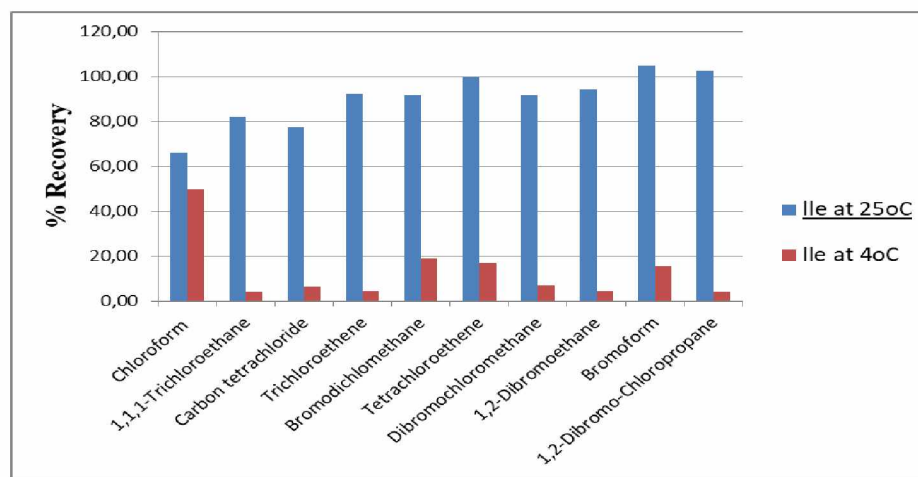
Εξάρτηση της απόδοσης απομόνωσης των αναλυτών με τη μέθοδο της εκχύλισης υγρού-υγρού από τη θερμοκρασία

Προκειμένου να διαπιστωθεί κατά πόσο επηρεάζεται η μέτρηση όταν η εκχύλιση πραγματοποιείται στους 4°C ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25°C), παρασκευάζονται διαλύματα εργασίας με προσθήκη πρότυπου διαλύματος 5μl σε 10mL απιονισμένου νερού, προστίθεται 1mL εξάνιο και ακολουθεί η διαδικασία εκχύλισης υγρού – υγρού. Η συγκέντρωση που προκύπτει είναι 100ng/mL. Αναλύθηκαν σε κάθε περίπτωση 3 εμβολιασμένα δείγματα απιονισμένου νερού μετά από εκχύλιση με διαλύτη εξάνιο, όπου στην πρώτη περίπτωση ο χρόνος ηρεμίας του δείγματος πραγματοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και στη δεύτερη περίπτωση ο χρόνος ηρεμίας πραγματοποιείται στους 4°C. Υπολογίστηκε το ποσοστό της ανάκτησης των ουσιών και η τυπική απόκλιση των μετρήσεων. Τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών παρουσιάζονται στον Πίνακα 13.

Πίνακας 13. Ανάκτηση αναλυτών μετά τις πειραματικές δοκιμές σε διαφορετικές θερμοκρασίες δείγματος

Συγκέντρωση (100 ng/mL)	Ανάκτηση (%)± SD σε θερμοκρασία 25 °C	Ανάκτηση (%)± SD σε θερμοκρασία 4 °C
Chloroform	65,87±7,81	49,85 ± 21,89
1,1,1-Trichloroethane	81,78±3,33	4,15 ± 0,41
Carbon tetrachloride	77,37±4,01	6,55 ± 0,27
Trichloroethene	92,40±4,73	4,62 ± 0,32
Bromodichloromethane	91,39±5,13	18,90 ± 9,26
Tetrachloroethene	99,79±6,95	17,30 ± 7,11
Dibromochloromethane	91,48±9,00	7,00 ± 0,09
1,2-Dibromoethane	94,32±7,23	4,65 ± 0,17
Bromoform	104,71±8,86	15,85 ± 5,98
1,2-Dibromo-3-Chloropropane	102,50±13,15	4,25 ± 0,09

Όπως φαίνεται και στο γράφημα 2 τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η θερμοκρασία για την βέλτιστη ανάκτηση των περισσότερων αναλυτών είναι η θερμοκρασία περιβάλλοντος.



Γράφημα 2. Ανάκτηση των ενώσεων σε διαφορετική θερμοκρασία εκχύλισης

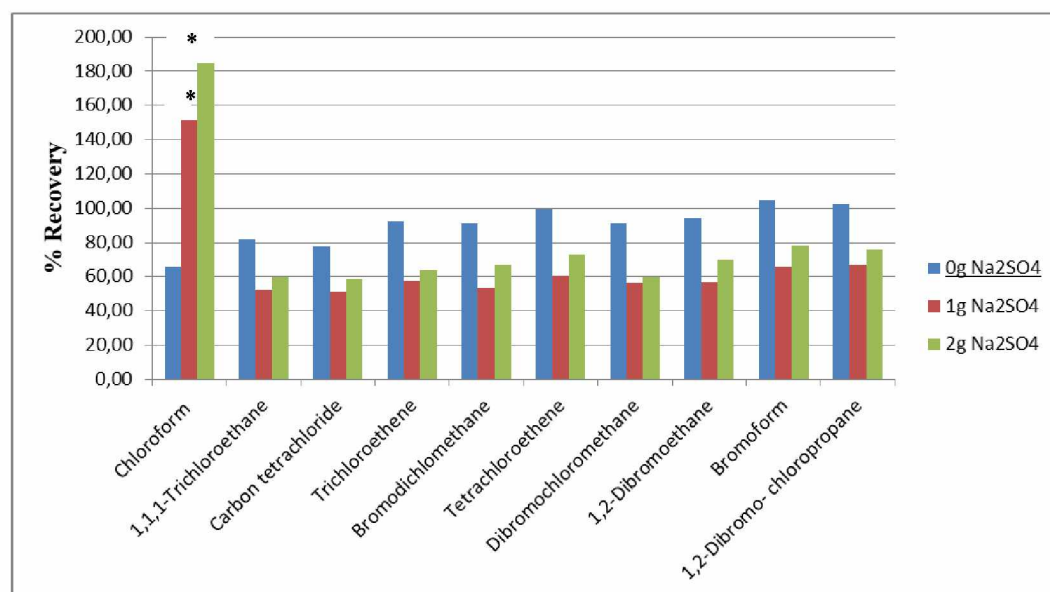
Εξάρτηση της απόδοσης απομόνωσης των αναλυτών με τη μέθοδο της εκχύλισης υγρού-υγρού από την εξαλάτωση του δείγματος

Οι συνθήκες ανάλυσης ήταν οι βέλτιστες όσον αφορά τη θερμοκρασία και το χρόνο εκχύλισης. Ελέγχθηκαν εμβολιασμένα δείγματα απιονισμένου νερού συγκέντρωσης 100ng/mL με την προσθήκη 1 και 2g άλατος. Ακολούθησαν 3 επαναλήψεις από κάθε κατηγορία και υπολογίστηκε το ποσοστό ανάκτησης των αναλυτών, καθώς και η τυπική απόκλιση των μετρήσεων. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 14.

Πίνακας 14. Ανάκτηση αναλυτών μετά τις πειραματικές δοκιμές σε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος Na₂SO₄

Συγκέντρωση (100 ng/mL)	Ποσοστό ανάκτησης (%)±SDσε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος (Na ₂ SO ₄)		
	0 g	1 g	2 g
Chloroform	65,87±7,81	151,45 ± 18,29	184,42 ±17,62
1,1,1-Trichloroethane	81,78±3,33	52,17 ± 3,53	59,63 ± 7,40
Carbon tetrachloride	77,37±4,01	52,15 ± 3,60	58,49 ± 7,99
Trichloroethene	92,40±4,73	57,44 ± 3,92	64,29 ± 8,27
Bromodichloromethane	91,39±5,13	53,61 ± 3,18	67,26 ± 8,75
Tetrachloroethene	99,79±6,95	60,39 ± 4,37	72,97 ± 9,90
Dibromochloromethane	91,48±9,00	56,63 ± 12,50	59,60 ± 9,76
1,2-Dibromoethane	94,32±7,23	57,11 ± 4,87	70,11 ± 9,83
Bromoform	104,71±8,86	65,61 ± 6,44	77,99 ± 11,40
1,2-Dibromo-3-Chloropropane	102,50±13,15	67,19 ± 9,43	75,58 ± 13,12

Όπως φαίνεται και στο γράφημα 3 τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η βέλτιστη ανάκτηση των ουσιών πραγματοποιείται χωρίς την προσθήκη άλατος.



Γράφημα 3. Ανάκτηση των ουσιών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος *ποσοστό που οφείλεται σε προσμίξεις

3.4.2. Παράγοντες επικύρωσης της μεθόδου

Γραμμικότητα – καμπύλη βαθμονόμησης

Μετά την επιλογή της μεθόδου, κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς για κάθε ένωση με την χρήση 5 διαφορετικών συγκεντρώσεων πρότυπων διαλυμάτων (20, 40, 60, 80 και 100ng/mL). Στη συνέχεια υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης R , ο συντελεστής προσδιορισμού R^2 . Μετά την βαθμονόμηση του οργάνου, υπολογίστηκαν από το χρωματογράφημα του κατώτερου σημείου της καμπύλης βαθμονόμησης (20ng/mL), ο λόγος του σήματος προς τον θορύβου (Signal/Noise), για κάθε ένωση. Ο λόγος S/N που ισούται με 3:1 αντιστοιχεί στο όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) και ο λόγος S/N που ισούται με 10:1 αντιστοιχεί στο όριο ανίχνευσης (LOD). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέθοδος επιτρέπει χαμηλά όρια ανίχνευσης και όρια ποσοτικοποίησης για τις περισσότερες ενώσεις. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση παλινδρόμησης φαίνονται στον Πίνακα 15. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση παλινδρόμησης δείχνουν πως ο συντελεστής προσδιορισμού R^2 για τις περισσότερες ενώσεις πλησιάζει την μονάδα, γεγονός που αποδεικνύει την καλή συσχέτιση των εμβαδών των κορυφών που λήφθηκαν με την συγκέντρωση των πρότυπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.

Πίνακας 15. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης: εξίσωση της ευθείας, R , R^2 , LOD, LOQ

Ένωση	Μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων: $y=ax + \beta$					
	α	β	R	R^2	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
Chloroform	104,21	775,77	0,981	0,962	2,44	7,41
1,1,1-Trichloroethane	50,68	-79,56	0,995	0,989	2,75	8,33
Carbon tetrachloride	164,76	-799,89	0,992	0,984	0,78	2,35
Trichloroethene	63,84	-196,34	0,992	0,984	2,54	7,69
Bromodichloromethane	87	-200,73	0,996	0,991	2,13	6,45
Tetrachloroethene	61,97	-132,87	0,994	0,989	2,54	7,69
Dibromochloromethane	161,68	-1051,81	0,981	0,963	1,05	3,17
1,2-Dibromoethane	34,66	-133,87	0,991	0,983	4,71	14,29
Bromoform	28,07	-90,22	0,992	0,985	4,40	13,33
1,2-Dibromo-3-chloropropane	38,06	-150,99	0,986	0,973	1,65	5,00

Ακρίβεια, Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου

Η ακρίβεια της μεθόδου ελέγχθηκε με πειράματα επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας. Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας της μεθόδου διενεργήθηκαν σε μία ημέρα 5 μετρήσεις εμβολιασμένου δείγματος απιονισμένου νερού συγκέντρωσης 100ng/mL. Στη συνέχεια υπολογίστηκε η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, η σχετική τυπική απόκλιση και ο συντελεστής μεταβλητότητας των αποτελεσμάτων των μετρήσεων (Πίνακας 16). Για τον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν σε χρονικό διάστημα μίας εβδομάδας, συνολικά 5 μετρήσεις

εμβολιασμένου δείγματος απιονισμένου νερού συγκέντρωσης 80ng/mL. Στη συνέχεια υπολογίστηκε η μέση τιμή (mean), η τυπική απόκλιση (SD), η σχετική τυπική απόκλιση (RSD) και ο συντελεστής μεταβλητότητας (CV%) των αποτελεσμάτων των μετρήσεων (Πίνακας 17). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέθοδος παρουσιάζει αποδεκτή ακρίβεια, καλή επαναληψιμότητα και καλή αναπαραγωγιμότητα για τις ενώσεις, καθώς η μέση τιμή των αποτελεσμάτων για τις περισσότερες ενώσεις είναι εντός του $\pm 15\%$ σε συμφωνία με την πραγματική τιμή.

Πίνακας 16. Αποτελέσματα μετρήσεων για την ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου

Συγκέντρωση (80 ng/mL)	Αριθμός μετρήσεων (n=5)					
	Mean	SD	RSD	%CV	Accuracy %	Bias%
Chloroform	105,78	17,74	0,17	17,09	129,72	29,72
1,1,1-Trichloroethane	74,45	3,12	0,04	4,19	93,06	-6,94
Carbon tetrachloride	72,23	3,01	0,04	4,17	90,29	-9,71
Trichloroethene	83,38	4,34	0,05	5,20	104,22	4,22
Bromodichloromethane	82,06	7,89	0,10	9,61	102,58	2,58
Tetrachloroethene	88,57	9,12	0,10	10,29	110,71	10,71
Dibromochloromethane	81,88	6,72	0,08	8,21	102,35	2,35
1,2-Dibromoethane	77,95	7,70	0,10	9,88	97,44	-2,56
Bromoform	92,94	10,12	0,11	10,89	116,18	16,18
1,2-Dibromo-3-Chloropropane	87,88	8,95	0,10	10,19	109,85	9,85

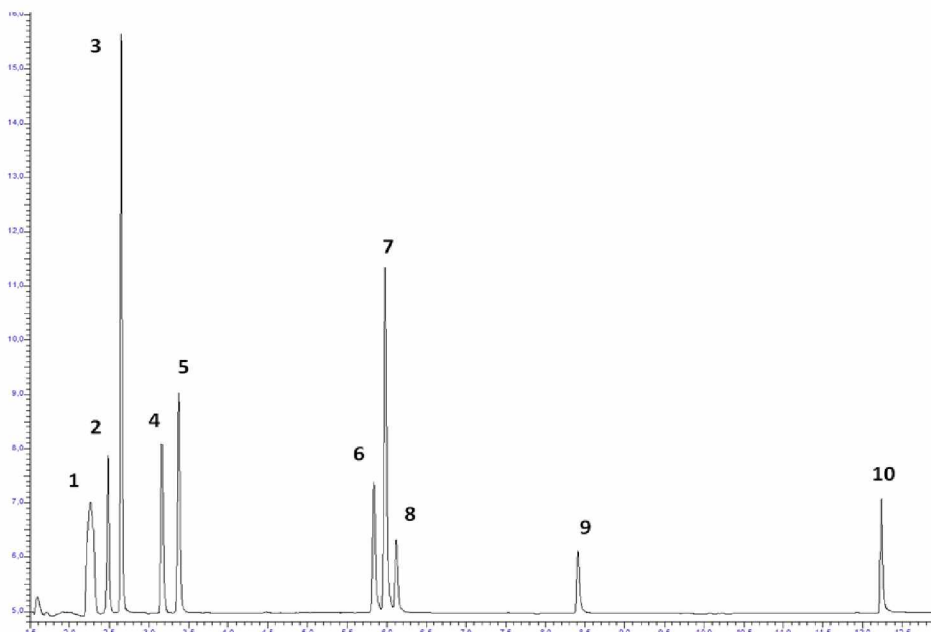
Πίνακας 17. Αποτελέσματα μετρήσεων αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου

Συγκέντρωση (80 ng/mL)	Αριθμός μετρήσεων (n=5)					
	Mean	SD	RSD	%CV	Accuracy %	Bias%
Chloroform	105,57	27,02	0,26	25,59	131,96	31,96
1,1,1-Trichloroethane	74,96	2,41	0,03	3,21	93,71	-6,29
Carbon tetrachloride	73,35	2,88	0,04	3,93	91,69	-8,31
Trichloroethene	83,99	3,49	0,04	4,15	104,99	4,99
Bromodichloromethane	84,95	3,40	0,04	4,01	106,19	6,19
Tetrachloroethene	91,72	4,53	0,05	4,94	114,65	14,65
Dibromochloromethane	83,07	5,82	0,07	7,00	103,84	3,84
1,2-Dibromoethane	85,42	5,48	0,06	6,41	106,78	6,78
Bromoform	94,29	3,98	0,04	4,22	117,86	17,86
1,2-Dibromo-3-Chloropropane	91,71	9,06	0,10	9,88	114,64	14,64

Εξειδίκευση και επιλεκτικότητα

Όπως αναφέρθηκε κατά το θεωρητικό μέρος, η εξειδίκευση και η επιλεκτικότητα της αναλυτικής μεθόδου περιγράφει τον βαθμό στον οποίο η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό και διαχωρισμό των ενώσεων από άλλα συστατικά του δείγματος. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε (εκχύλιση υγρού – υγρού και χρωματογραφική ανάλυση)

επέτρεψε τον βέλτιστο διαχωρισμό των αναλυτών όπως φαίνεται και στο προκύπτον χρωματογράφημα (Εικόνα 46).



Εικόνα 45. Χρωματογράφημα των ενώσεων πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 100ppb. Οι αριθμημένες κορυφές αντιστοιχούν στις αντίστοιχες ενώσεις: 1. Chloroform 2. 1,1,1-Trichloroethane 3. Carbon tetrachloride 4. Trichloroethene 5. Bromodichloromethane 6. Tetrachloroethene 7. Dibromochloromethane 8. 1,2-Dibromoethane, 9. Bromoform 10. 1,2-Dibromo-3-Chloropropane

3.4.4. Πρωτόκολλο ανάλυσης

Το πρωτόκολλο ανάλυσης που διαμορφώθηκε ακολουθεί τα εξής βήματα:

- 1) Σε ένα φιαλίδιο χωρητικότητας 20 mL (Chromatography Direct), μεταφέρονται 10mL δείγματος (θαλάσσιου έρματος)
- 2) Με μία μικροσύριγγα προστίθεται 1mL εξάνιο και ακολουθεί η ανάδευση του δείγματος με τη χρήση αναδευτήρα, για 1 min σε 2400 rpm
- 3) Το δείγμα αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 30 min, ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις
- 4) Μετά το χρόνο αναμονής των 30min, με τη βοήθεια μιας μικροσύριγγας μεταφέρεται η οργανική φάση σε ένα φιαλίδιο χωρητικότητας 2mL (Perkin Elmer)
- 5) Ακολουθεί η χρωματογραφική ανάλυση

Συνθήκες Ανάλυσης

Θερμοκρασία εισαγωγέα: 250°C

Ρυθμός ροής φέροντος αερίου: 2 mL/min

Συνθήκες διαμοίρασμού: 5:1

Θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου

	38°C	5 min,
10°C/ min	70°C	1 min
20°C/ min	220°C	1 min

Ρυθμός make-up gas: 30 mL/min

Θερμοκρασία ανιχνευτή: 320°C

3.5. Χρωματογραφικός Προσδιορισμός Αλογονοξικών Οξέων

Πέρα από τα 5 κύρια αλογονοξικά οξέα (Monochloroacetic acid, Dichloroacetic acid, Dibromochloroacetic acid, Monobromoacetic acid, Trichloroacetic acid) που πρέπει να ελέγχονται σύμφωνα με την αναφορά Vessel Discharge Sample Collection & Analytical Monitoring της EPA [84], αναλύθηκαν ακόμα 4 αλογονοξικά οξέα (Dibromoacetic acid, Tribromoacetic acid, Dichlorobromoacetic acid, Bromochloroacetic acid) και το Dalapon, που σύμφωνα με την GESAMP [23], βρίσκονται στο επεξεργασμένο θαλάσσιο έρμα ως παραπροϊόντα απολύμανσης.

3.5.1. Πειραματική πορεία

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό των αλογονοξικών οξέων, βασίστηκε στην μέθοδο 552.2 της EPA [135], ενώ η χρωματογραφική ανάλυση των ενώσεων – το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου του αέριου χρωματογράφου – βασίστηκε στην μέθοδο αναφοράς 552.3 της EPA [136]. Σύμφωνα με τη μέθοδο (552.2), πριν τον χρωματογραφικό προσδιορισμό των αλογονοξικών οξέων, πρέπει να προηγηθεί η διαδικασία της παραγωγοποίησης τους, σε συνδυασμό με την εκχύλιση υγρού-υγρού.

3.5.1.1. Παρασκευή διαλυμάτων

1. Πρότυπα διαλύματα

Χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα των 9 αλογονοξικών οξέων και του Dalapon σε διαλύτη μεθυλο-τριτοταγής βουτυλαιθέρας (MtBE) συγκέντρωσης 2000μg/mL (Supelco) (Πίνακας 18). Το μείγμα αλογονοξικών οξέων αποθηκεύτηκε σε φιαλίδιο Perkin Elmer χωρητικότητας 2mL στους -19°C.

Χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα 2,3-Dibromopropionic acid σε διαλύτη MtBE, συγκέντρωσης 1000μg/mL (Supelco), ως ουσία διερεύνησης της επίδρασης της μεθόδου εκχύλισης προς τους αναλύτες (surrogate compound). Το διάλυμα αποθηκεύτηκε σε φιαλίδιο PerkinElmer χωρητικότητας 2mL στους -19°C.

2. Παρασκευή διαλυμάτων εργασίας (work solution)

Από το πρότυπο διάλυμα αλογονοξικών οξέων παρασκευάστηκε 1 διάλυμα εργασίας σε διαλύτη MtBE, συγκέντρωσης 10μg/mL και τελικό όγκο 1mL, το οποίο στη συνέχεια αποθηκεύτηκε σε φιαλίδιο PerkinElmer χωρητικότητας 2mL στους -19°C.

Από το πρότυπο διάλυμα 2,3-Dibromopropionic acid, παρασκευάστηκε διάλυμα εργασίας συγκέντρωσης 10μg/mL σε διαλύτη MtBE και τελικό όγκο 1mL. Το φιαλίδιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν PerkinElmer χωρητικότητας 2mL και το διάλυμα αποθηκεύτηκε στους -19°C.

3. Παρασκευή Διαλύματος 10% οξινισμένης μεθανόλης

Σε μία ογκομετρική φιάλη των 50mL προστέθηκαν στάγδην 5mL πυκνού θειικού οξέως (H_2SO_4 , 98%). Στην συνέχεια προστέθηκαν 45mL μεθανόλης ($CH_3OH \geq 99,9\%$). Το διάλυμα χρησιμοποιείται για τη διαδικασία της παραγωγοποίησης, όπου με τη θέρμανση και τη προσθήκη οξινισμένης μεθανόλης τα αλογονοξικά οξέα μετατρέπονται στους αντίστοιχους μεθυλεστέρες.

4. Κορεσμένο διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου ($NaHCO_3$)

Σε μια γυάλινη ογκομετρική φιάλη των 100mL προστίθεται $NaHCO_3$ σε απιονισμένο νερό, αναμιγνύοντας καλά και επαναλαμβάνοντας μέχρι να επιτευχθεί ο κορεσμός του διαλύματος. Το διάλυμα χρησιμοποιείται αμέσως μετά την απομάκρυνση των φιαλιδίων από το υδατόλουτρο, για την εξουδετέρωση του εκκυλιζόμενου δείγματος.

Πίνακας 18. Ενώσεις του πρότυπου διαλύματος αλογονοξικών οξέων

A/A	Ένωση	Συγκέντρωση
1	Bromochloroacetic acid (BCAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
2	Bromodichloroacetic acid (BDCAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
3	Chlorodibromoacetic acid (CDBAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
4	Dalapon (2,2-Dichloropropionic acid)	2000 $\mu\text{g/mL}$
5	Dibromoacetic acid (DBAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
6	Dichloroacetic acid (DCAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
7	Monobromoacetic acid (MBAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
8	Monochloroacetic acid (MCAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
9	Tribromoacetic acid (TBAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$
10	Trichloroacetic acid (TCAA)	2.000 $\mu\text{g/mL}$

3.5.1.2. Χρωματογραφική ανάλυση

Εκχύλιση υγρού – υγρού και παραγωγοποίηση

Η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε βασίστηκε στην μέθοδο αναφοράς για τον διαχωρισμό των αλογονοξικών οξέων της EPA 552.2. Οι όγκοι των πρότυπων διαλυμάτων και του διαλύτη που δίνονται από την μέθοδο αναφοράς προσαρμόστηκαν στα εργαστηριακά αναλώσιμα που υπήρχαν διαθέσιμα στο εργαστήριο.

Η πειραματική πορεία ξεκινάει με τον εμβολιασμό 5 μl 2,3-Διβρωμοπροπιονικού οξέος (2,3-Dibromopropionic acid) συγκέντρωσης 10 $\mu\text{g/mL}$ και 5 μl από το πρότυπο διάλυμα αλογονοξικών οξέων (HAAs) συγκέντρωσης 10 $\mu\text{g/mL}$, σε 10mL δείγματος απιονισμένου νερού, σε ένα φιαλίδιο Chromatography Direct χωρητικότητας 20mL.

Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην 0.6mL πυκνού H_2SO_4 (Hach) και ακολουθεί η μέτρηση του pH με πεχαμετρικές ταινίες (Merck). Το pH του δείγματος πρέπει να είναι

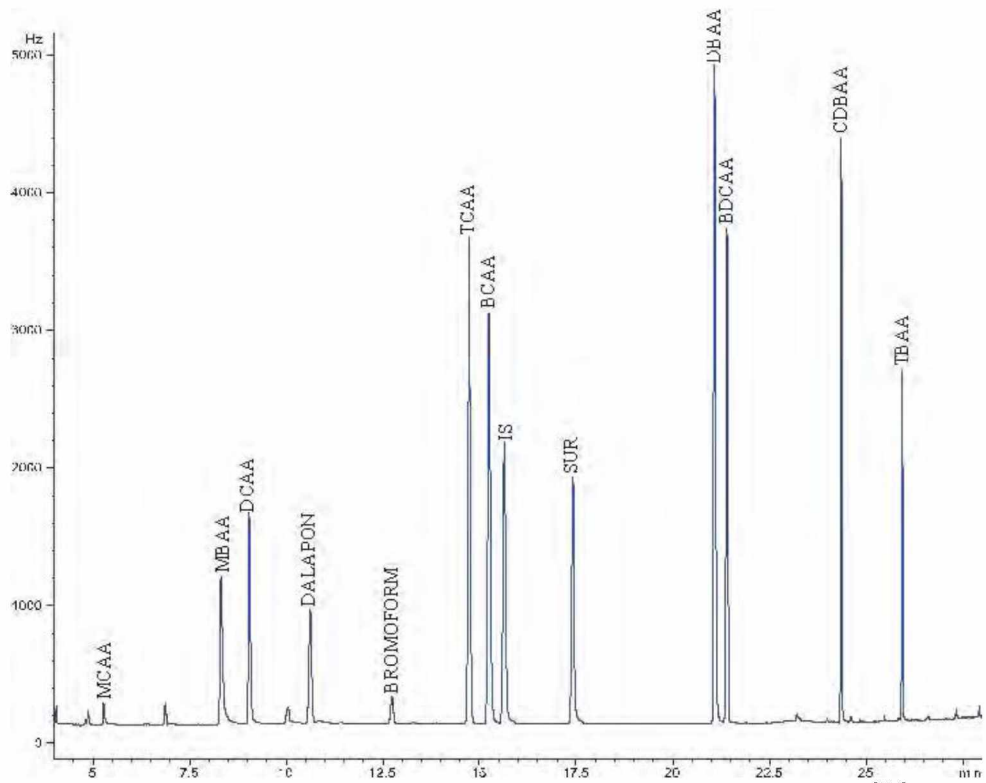
0.5. Στη συνέχεια προστίθεται 0,5g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Fluka) και 4g Na_2SO_4 (Sigma Aldrich) και ακολουθεί ανάδευση με vortex στις 2000 rpm μέχρι πλήρους διαλυτοποίησης των δύο αλάτων. Με την προσθήκη $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ η υδατική φάση του δείγματος χρωματίζεται μπλε, προσφέροντας μεγαλύτερη ευκολία στον οπτικό διαχωρισμό των δύο φάσεων. Η προσθήκη του άλατος Na_2SO_4 γίνεται αμέσως μετά την προσθήκη H_2SO_4 , ώστε η θερμότητα ιονισμού των οξέων να βοηθήσει στη διαλυτοποίηση του άλατος. Το άλας αυτό αυξάνει την ιοντική ισχύ της υδατικής φάσης και οδηγεί τα HAAs ευκολότερα στην οργανική φάση κατά την εκχύλιση. Επιπλέον, μειώνει τη διαλυτότητα του MtBE στην υδατική φάση, διευκολύνοντας την ανάκτηση των αναλυτών. Αφού διαλυτοποιηθούν τα άλατα που προστέθηκαν, προστίθενται 2mL διαλύτη MtBE, ακολουθεί η ανάδευση του δείγματος για 3min και η αναμονή για το χρόνο εκχύλισης είναι 30min.

Μετά το πέρας των 30min, μεταφέρονται 1.5mL από την οργανική φάση σε ένα φιαλίδιο Chromatography Directχωρητικότητας 4mL. Προστίθεται 0.5mL διαλύματος 10% οξινισμένης μεθανόλης (10% $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_3\text{OH}$). Με το διάλυμα αυτό επιτυγχάνεται η παραγωγοποίηση – δηλαδή η μετατροπή των αλογονοξικών οξέων στους αντίστοιχους μεθυλεστέρες τους. Τα φιαλίδια μεταφέρονται στο υδατόλουτρο και παραμένουν για 2h σε θερμοκρασία 50°C.

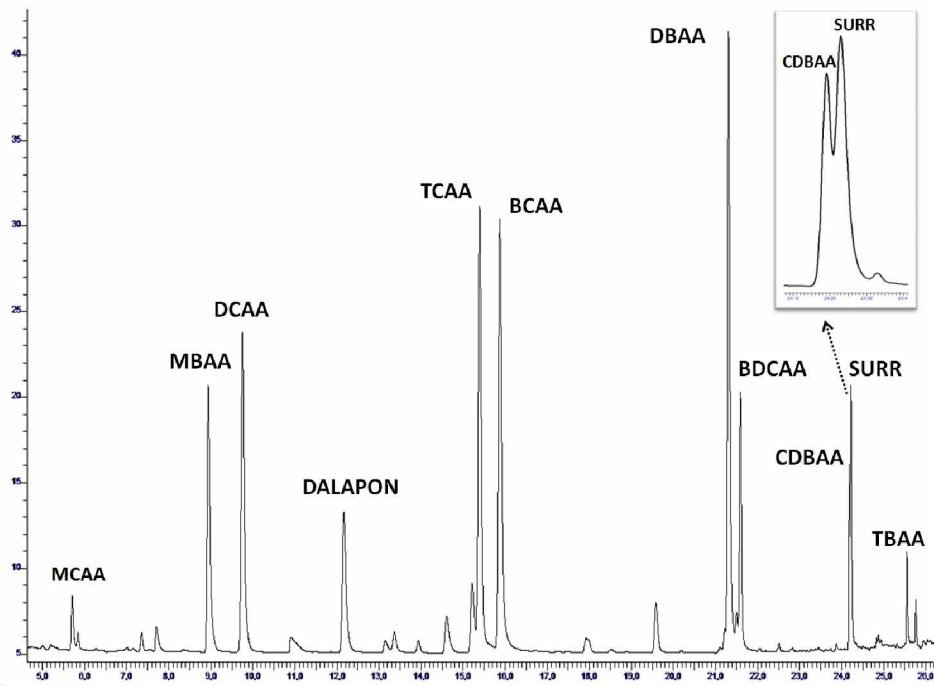
Μετά το χρονικό διάστημα των 2h, τα φιαλίδια απομακρύνονται από το υδατόλουτρο και αφήνονται να έλθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στην συνέχεια, προστίθενται 1.5mL κορεσμένου διαλύματος NaHCO_3 . Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται για την εξουδετέρωση του εκχυλιζόμενου δείγματος και πρέπει να προστίθεται με προσοχή λόγω της έκλυσης CO_2 από την αντίδραση εξουδετέρωσης. Ακολουθεί η ανάδευση του φιαλιδίου με σταδιακή εξαέρωση για να διαφύγει το παραγόμενο CO_2 . Μεταφέρονται 1mL από την οργανική φάση σε ένα φιαλίδιο PerkinElmer χωρητικότητας 2mL και ακολουθεί η χρωματογραφική ανάλυση.

Οι παράμετροι της χρωματογραφικής ανάλυσης βασίστηκαν στη μέθοδο αναφοράς 552.3 της EPA. Πιο συγκεκριμένα, η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 210°C και πραγματοποιήθηκαν πειράματα χωρίς διαμοιρασμό (splitless mode). Το φέρον αέριο είχε ρυθμό ροής 1.4mL/min. Η θερμοκρασία του φούρνου ξεκινούσε από 40°C για 10min, με ρυθμό 2.5°C/min έφτανε στους 65°C, έπειτα με ρυθμό 10°C/min έφτανε στους 85°C και τέλος με ρυθμό 20°C/min στους 210°C για 5min. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ήταν 290°C και το make-up gas είχε ροή 30mL/min. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 33,25min.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων έγινε συγκρίνοντας τον πειραματικό χρόνο έκλυσης με τους χρόνους έκλυσης που δίνονται από το χρωματογράφημα αναφοράς της μεθόδου 552.3 της EPA (Εικόνες 47 και 48). Επιπλέον, επειδή χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό surrogate compound από αυτό που προτείνει η συγκεκριμένη οδηγία της EPA, ακολουθήθηκε η διαδικασία εκχύλισης υγρού – υγρού και παραγωγοποίησης που περιγράφηκε προηγουμένως, χωρίς την προσθήκη των αλογονοξικών οξέων (HAAs) για να διαπιστωθεί ο χρόνος έκλυσης του 2,3-Διβρωμοπροπιονικού οξέος (2,3-Dibromopropionic acid, surrogate compound). Μετά την χρωματογραφική ανάλυση, διαπιστώθηκε ότι ο πειραματικός χρόνος έκλυσης του surrogate compound αντιστοιχεί σε 24,22min.

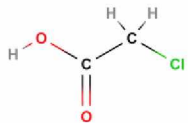
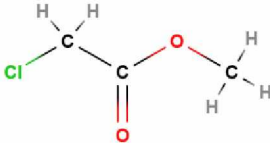
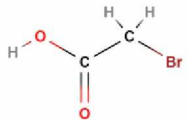
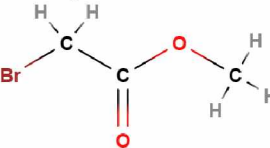
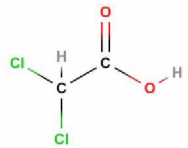
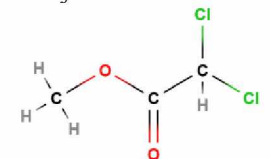
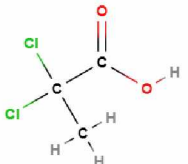
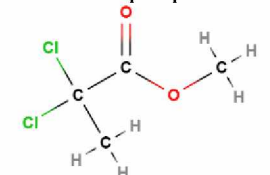


Εικόνα 46. Χρωματογράφημα Αλογονοξικών οξέων της μεθόδου 552.3 της EPA [136]

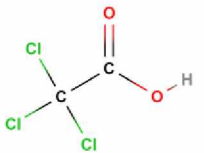
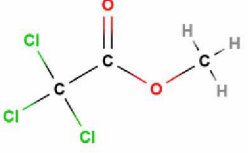
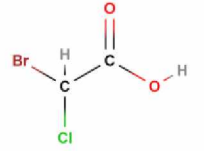
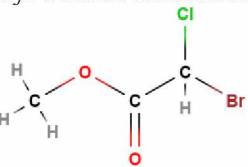
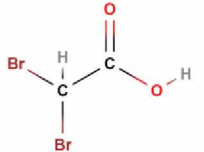
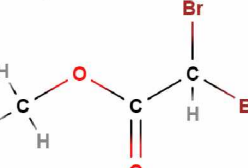


Εικόνα 47. Χρωματογράφημα αλογονοξικών οξέων της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε

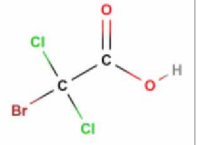
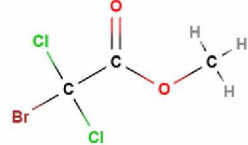
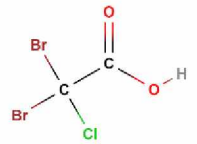
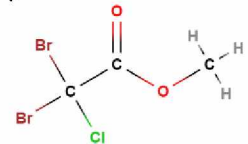
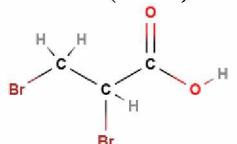
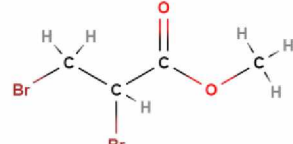
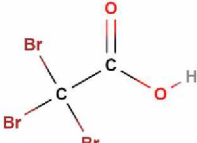
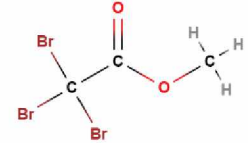
Πίνακας 19. Αλογονοξικά οξέα που αναλύθηκαν (1)

Αλογονοξικά οξέα ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57] (g/mol)	Σημείο Ζέσεως ^[57] (°C)	Μεθυλεστέρες ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57] (g/mol)	Σημείο Ζέσεως ^[57] (°C)	Πειραματικός χρόνος έκλυσης	Χρόνος έκλυσης σύμφωνα με την EPA (552.3) ^[136]
Monochloroacetic acid 	94,5	189,3	Methyl chloroacetate 	108,52	131	5,68	5,28
Monobromoacetic acid 	138,95	206 - 208	Methyl bromoacetate 	152,98	154	8,92	8,31
Dichloroacetic acid 	128,94	194	Methyl dichloroacetate 	142,97	143	9,73	9,05
Dalapon (2,2-Dichloropropionic acid) 	142,97	187,5	Methyl 2,2-Dichloropropionate 	156,99	165	12,12	10,63

Πίνακας 20. Αλογονοξικά οξέα που αναλύθηκαν (2)

Αλογονοξικά οξέα ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57] (g/mol)	Σημείο Ζέσεως ^[57] (°C)	Μεθυλεστέρες ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57] (g/mol)	Σημείο Ζέσεως ^[57] (°C)	Πειραματικός χρόνος έκλυσης	Χρόνος έκλυσης σύμφωνα με την EPA (552.3) ^[136]
Trichloroacetic acid 	163,38	196	Methyl trichloroacetate 	177,41	152	15,37	14,73
Bromochloroacetic acid 	173,39	215,0	Methyl bromochloroacetate 	187,42	147,9	15,86	15,25
Dibromoacetic acid 	217,84	232-234	Methyl dibromoacetate 	231,87	182	21,31	21,08

Πίνακας 21. Αλογονοξικά οξέα που αναλύθηκαν (3)

Αλογονοξικά οξέα ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57] (g/mol)	Σημείο Ζέσεως ^[57] (°C)	Μεθυλεστέρες ^[134]	Μοριακό βάρος ^[57] (g/mol)	Σημείο Ζέσεως ^[57] (°C)	Πειραματικός χρόνος έκλυσης	Χρόνος έκλυσης σύμφωνα με την EPA (552.3) ^[136]
Dichlorobromoacetic acid 	207,83	200,7± 35,0 (*)	Methyl bromodichloroacetate 	221,86	159,7	21,59	21,39
Dibromochloroacetic acid 	252,29	217,7± 35,0 (*)	Methyl chlorodibromoacetate 	266,31	181	24,18	24,35
2,3-Dibromopropionic acid (SUR) 	231,87	160 (*)	Methyl 2,3-Dibromopropionate 	245,9	206,0	24,22	-
Tribromoacetic acid 	296,74	245	Methyl tribromoacetate 	310,77	204	25,55	25,94

*προβλεπόμενες τιμές^[137]

3.5.5. Παράγοντες επικύρωσης της μεθόδου

Γραμμικότητα – καμπύλη βαθμονόμησης

Για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς των ενώσεων που αναλύθηκαν, ακολουθήθηκε η διαδικασία εκχύλισης υγρού – υγρού και παραγωγοποίησης για 2h, εμβολιάζοντας σε 10mL απιονισμένου νερού 0,5, 2, 4, 6 και 8μl surrogate compound με αντίστοιχους εμβολιασμούς με 0,5, 2, 4, 6 και 8μl από το πρότυπο των HAAs. Τα διαλύματα που προέκυψαν είχαν συγκεντρώσεις 5, 20, 40, 60 και 80ng/μl αντίστοιχα. Πραγματοποιήθηκαν 3 πειραματικές δοκιμές με τις συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων, την ίδια ημέρα, για την βαθμονόμηση του οργάνου. Στη συνέχεια, μέσω της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων, κατασκευάστηκαν οι καμπύλες αναφοράς για κάθε ένωση, συμπεριλαμβάνοντας και το τυφλό δείγμα. Έπειτα, υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης R και ο συντελεστής προσδιορισμού R². Τα αποτελέσματα από την ανάλυση παλινδρόμησης των πειραμάτων 1, 2 και 3 παρατίθενται στους πίνακες 22, 23 και 24 αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μετρήσεις κατά την βαθμονόμηση του οργάνου παρουσιάζουν καλή επαναληψιμότητα. Όπως φαίνεται από την ανάλυση παλινδρόμησης των πειραμάτων, ο συντελεστής προσδιορισμού R² πλησιάζει την μονάδα, γεγονός που αποδεικνύει την καλή συσχέτιση των εμβαδών των κορυφών που λήφθηκαν με την συγκέντρωση των πρότυπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.

Πίνακας 22. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης του πειράματος 1: εξίσωση της ευθείας, R και R²

Ένωση	Πείραμα 1. Μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων: $y=ax + \beta$			
	a	β	R	R ²
MCAA	34,86	-40,99	0,997	0,993
MBAA	275,44	-52,33	0,998	0,997
DCAA	311,90	76,82	0,994	0,987
DALAPON	486,51	469,55	0,995	0,990
TCAA	377,31	1612,55	0,990	0,979
BCAA	364,59	-127,49	0,999	0,998
DBAA	436,11	-342,9	0,999	0,999
BDCAA	129,63	-35,66	0,997	0,995
CDBAA	47,33	3,92	0,999	0,998
SURR	394,01	200,37	0,988	0,977
TBAA	40,11	-7,84	0,998	0,997

Πίνακας 23. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης του πειράματος 2: εξίσωση της ευθείας, R και R²

Ένωση	Πείραμα 2. Μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων: $y=ax + \beta$			
	a	β	R	R ²
MCAA	30,26	47,28	0,999	0,997
MBAA	341,16	-638,89	0,997	0,994
DCAA	376,70	-626,73	0,997	0,994
DALAPON	532,41	61,33	0,984	0,969
TCAA	459,80	-442,52	0,996	0,991
BCAA	447,72	-1086,77	0,994	0,987
DBAA	500,81	-1387,76	0,990	0,980
BDCAA	149,80	-327,26	0,990	0,980
CDBAA	60,44	-184,39	0,982	0,963
SURR	524,37	-1590,60	0,993	0,987
TBAA	40,53	-75,58	0,998	0,995

Πίνακας 24. Αποτελέσματα ανάλυσης παλινδρόμησης του πειράματος 3: εξίσωση της ευθείας, R και R²

Ένωση	Πείραμα 3. Μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων: $y=ax + \beta$			
	a	β	R	R ²
MCAA	31,97	31,53	0,998	0,997
MBAA	282,30	226,62	0,996	0,991
DCAA	314,81	396,68	0,987	0,975
DALAPON	468,91	706,83	0,980	0,961
TCAA	389,48	922,90	0,993	0,985
BCAA	355,58	218,54	0,998	0,996
DBAA	416,14	-497,38	0,992	0,983
BDCAA	123,29	67,61	0,997	0,994
CDBAA	40,87	101,81	0,989	0,979
SURR	456,20	-270,75	0,994	0,988
TBAA	38,71	-19,04	1,000	0,998

Μετά την βαθμονόμηση του οργάνου, υπολογίστηκαν από το χρωματογράφημα του κατώτερου σημείου της καμπύλης βαθμονόμησης (5ng/mL) της πειραματικής δοκιμής 1, ο λόγος του σήματος προς τον θορύβου (Signal/Noise), για κάθε ένωση. Ο λόγος S/N που ισούται με 3:1 αντιστοιχεί στο όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) και ο λόγος S/N που ισούται με 10:1 αντιστοιχεί στο όριο ανίχνευσης (LOD). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέθοδος επιτρέπει χαμηλά όρια ανίχνευσης και όρια ποσοτικοποίησης για τις περισσότερες ενώσεις (Πίνακας 25).

Πίνακας 25. Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του πειραμάτος 1

Ένωση	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
MCAA	5,50	16,67
MBAA	1,65	5,00
DCAA	0,92	2,78
DALAPON	0,61	1,85
TCAA	1,27	3,85
BCAA	1,50	4,55
DBAA	0,61	1,85
BDCAA	1,65	5,00
CDBAA	0,43	1,32
TBAA	1,83	5,56

Ακρίβεια, Επαναληψιμότητα και Αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου

Για τον προσδιορισμό της ακρίβειας και της επαναληψιμότητας της μεθόδου διενεργήθηκαν σε μία ημέρα 5 μετρήσεις πρότυπων διαλυμάτων, συγκεντρώσεων 5, 20, 40, 60 και 80 ng/μl. Η διαδικασία ξεκινάει με τον εμβολιασμό 0.5, 2, 4, 6 και 8μl surrogate compound, με αντίστοιχους εμβολιασμούς με 0.5, 2, 4, 6 και 8μl από το πρότυπο διάλυμα αλογονοξικών οξέων σε 10mL απιονισμένο νερό. Τα διαλύματα που προκύπτουν είναι των συγκεντρώσεων 5, 20, 40, 60 και 80 ng/μl αντίστοιχα, τα οποία ακολουθούν την διαδικασία εκχύλισης υγρού – υγρού με διαλύτη MtBE και εν συνεχεία τη διαδικασία παραγωγοποίηση με τη χρήση 10% οξινισμένης μεθανόλης, για 2h στους 50°C. Μετά το διάστημα των 2h, ακολούθησε η εξουδετέρωση των διαλυμάτων με την προσθήκη 1.5mL NaHCO₃ και η χρωματογραφική ανάλυση. Μετά την επεξεργασία των χρωματογραφημάτων και την ακολουθούμενη ολοκλήρωση των κορυφών, χρησιμοποιήθηκε η τιμή των εμβαδών από τις κορυφές των ενώσεων για τον υπολογισμό της πειραματικής τιμής μέσω της καμπύλης βαθμονόμησης. Στην συνέχεια υπολογίστηκε η απόκλιση της πειραματικής τιμής από την πραγματική, ο μέσος όρος των μετρήσεων, το εκατοστιαίο σφάλμα των αποκλίσεων (accuracy %), το τυχαίο σφάλμα (bias %), η τυπική απόκλιση (SD), η σχετική τυπική απόκλιση (RSD) και ο συντελεστής μεταβλητότητας (%CV). Για τον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας, έγιναν συνολικά μετρήσεις πρότυπων διαλυμάτων σε διάστημα 1 εβδομάδας. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, δείχνουν ότι η μέθοδος παρουσιάζει αποδεκτή ακρίβεια, καλή επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα για τις ενώσεις που αναλύθηκαν, καθώς ο συντελεστής μεταβλητότητας (CV%), βρίσκεται εντός των ορίων ± 15%.

Πίνακας 26. Αποτελέσματα μετρήσεων ακρίβειας και επαναληψιμότητας της μεθόδου

Συγκέντρωση (60 ng/mL)	Αριθμός μετρήσεων n=5					
	Mean	SD	RSD	%CV	Accuracy %	Bias%
MCAA	60,60	1,02	0,0169	1,69	101,00	1,00
MBAA	60,68	0,61	0,0100	1,00	101,14	1,14
DCAA	60,40	0,46	0,0077	0,77	100,67	0,67
DALAPON	60,76	1,13	0,0186	1,86	101,26	1,26
TCAA	61,92	0,36	0,0058	0,58	103,20	3,20
BCAA	61,12	0,22	0,0036	0,36	101,87	1,87
DBAA	61,31	0,59	0,0096	0,96	102,19	2,19
BDCAA	61,87	1,04	0,0169	1,69	103,12	3,12
CDBAA	59,74	1,25	0,0209	2,09	99,56	-0,44
SURR	63,29	0,95	0,0150	1,50	105,48	5,48
TBAA	62,51	0,70	0,0111	1,11	104,19	4,19

Πίνακας 27. Αποτελέσματα μετρήσεων για την ακρίβεια και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου

Συγκέντρωση (60 ng/mL)	Αριθμός μετρήσεων n=5					
	Mean	SD	RSD	%CV	Accuracy %	Bias%
MCAA	59,23	2,75	0,0464	4,64	98,71	-1,29
MBAA	64,45	3,08	0,0478	4,78	107,41	7,41
DCAA	65,39	3,82	0,0584	5,84	108,99	8,99
DALAPON	50,95	2,32	0,0455	4,55	84,92	-15,08
TCAA	57,94	1,89	0,0327	3,27	96,57	-3,43
BCAA	61,54	2,44	0,0396	3,96	102,57	2,57
DBAA	56,55	2,95	0,0521	5,21	94,24	-5,76
BDCAA	59,90	6,39	0,1067	10,67	99,83	-0,17
CDBAA	60,21	7,27	0,1207	12,07	100,35	0,35
SURR	64,46	4,38	0,0680	6,80	107,44	7,44
TBAA	53,48	7,80	0,1458	14,58	89,13	-10,87

3.5.6.Πρωτόκολλο ανάλυσης

- 1) Σε γυάλινο φιαλίδιο 20 mL μεταφέρονται 10 mL (Chromatography Direct) δείγματος (θαλάσσιο έρμα)
- 2) Εμβολιασμός με 5 μl 2,3-Dibromοpropionic acid (10μg/mL) στο φιαλίδιο
- 3) Ακολουθεί ρύθμιση του pH με προσθήκη στάγδην 0.6 mL πυκνού θεικού οξέως (H₂SO₄)
- 4) Ελέγχος με πεχαμετρικές ταινίες ώστε η τιμή του pH να είναι <0.5
- 5) Προσθήκη 4 g Na₂SO₄ στο φιαλίδιο και ανάδευση με Vortex μέχρι πλήρους διαλυτοποίησης
- 6) Προσθήκη 0.5g CuSO₄*5H₂O στο φιαλίδιο και ανάδευση με vortex μέχρι πλήρους διαλυτοποίησης (χρωματισμός υδατικής φάσης για αποτελεσματικότερη εκχύλιση)
- 7) Προσθήκη 2 mL διαλύτη MtBE και ανάδευση με Vortex για 3min
- 8) Το δείγμα αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 30 min, ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις
- 9) Μετά το χρόνο αναμονής των 30min, με τη βοήθεια μιας μικροσύριγγας μεταφέρεται 1.5mL από την οργανική φάση σε ένα φιαλίδιο χωρητικότητας 4 mL (Chromatography Direct) και προστίθεται στο φιαλίδιο 0.5mL από το διάλυμα της οξιμισμένης μεθανόλης (10% H₂SO₄/ CH₃OH)
- 10) Τα φιαλίδια τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 50°C για 2 h
- 11) Μετά τη πάροδο των 2 h, τα φιαλίδια απομακρύνονται από το υδατόλουτρο και αφήνονται να έλθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος
- 12) Προσθήκη 1.5mL κορεσμένου διαλύματος NaHCO₃ στο φιαλίδιο με προσοχή λόγω της έκλυσης CO₂ από την αντίδραση εξουδετέρωσης
- 13) Ακολουθεί σταδιακή ανάδευση με Vortex και σταδιακή εξαέρωση ανοίγοντας το πώμα του φιαλιδίου για να διαφύγει το παραγόμενο CO₂
- 14) Μεταφέρονται 1 mL από την οργανική φάση σε φιαλίδιο Perkin Elmer χωρητικότητας 2mL
- 15) Ακολουθεί η χρωματογραφική ανάλυση.

Συνθήκες Ανάλυσης

Θερμοκρασία εισαγωγέα: 210°C

Ρυθμός ροής φέροντος αερίου: 1,4 mL/min

Συνθήκες διαμοιρασμού: splitless

Θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου

	40°C	10 min,
2,5°C/ min	65°C	
10°C/ min	85°C	
20°C/ min	210	5 min

Ρυθμός make-up gas: 30 mL/min

Θερμοκρασία ανιχνευτή: 290°C

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Εφαρμογή Μεθόδων που αναπτύχθηκαν σε Δείγματα Ύδατος

4.1. Δειγματοληψία

Η δειγματοληψία είναι ένα σημαντικό στάδιο στην ανάλυση των ζητούμενων παραμέτρων ενός δείγματος. Αποτελεί ένα κρίσιμο σημείο για τη λήψη σωστών αποτελεσμάτων και καθορίζει την αξιοπιστία και την ακρίβεια των αναλυτικών αποτελεσμάτων. Επειδή είναι αδύνατο να ελεγχθεί το σύνολο του υποστρώματος, η δειγματοληψία σκοπεύει στη συλλογή δείγματος που θα είναι αντιπροσωπευτικό για το σύνολο του υποστρώματος. Η αποτελεσματική συλλογή του δείγματος, επιτυγχάνεται με την διαμόρφωση ενός σχεδίου δειγματοληψίας, που περιλαμβάνει και τη σύνταξη ενός δελτίου δειγματοληψίας, παρέχοντας όλες τις απαραίτητες πληροφορίες για την προέλευση του δείγματος λαμβάνοντας υπόψιν ορισμένες παραμέτρους. Οι παράμετροι αυτές, αφορούν το υπόστρωμα δειγματοληψίας, το μέγεθος και τον αριθμό δειγμάτων που θα ληφθούν καθώς και την τυχόν συντήρηση του δείγματος ανάλογα με τις αναλυτικές μεθόδους που θα εφαρμοστούν στο εργαστήριο. Το δελτίο δειγματοληψίας πρέπει να είναι εύχρηστο και να μπορεί να συμπληρωθεί εύκολα από τον δειγματολήπτη. Επιπλέον πληροφορίες, όπως η περιοχή δειγματοληψίας, ο τρόπος επεξεργασίας του υποστρώματος και οι επιτόπιες μετρήσεις για την χημική σύσταση του δείγματος, βοηθούν στην συσχέτιση των αποτελεσμάτων του δείγματος με το σύνολο του υποστρώματος ^[138].

Η δειγματοληψία εκτός από την συλλογή δείγματος καλύπτει και το στάδιο μεταφοράς του δείγματος προς το εργαστήριο που θα πραγματοποιηθούν οι αναλύσεις. Συχνά, η διαδικασία της δειγματοληψίας απέχει ένα χρονικό διάστημα από την ανάλυση του δείγματος, οπότε είναι σημαντικό να χρησιμοποιείται κάποια τεχνική για την αποφυγή αλλοίωσης της σύστασης του δείγματος και την συντήρηση των χαρακτηριστικών του, για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Ο τρόπος συντήρησης του δείγματος εξαρτάται από τις εκάστοτε αναλυτικές μεθόδους που εφαρμόζονται. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται για την συντήρηση του δείγματος δεν πρέπει να παρεμποδίζουν την ανάλυση ή να αντιδρούν με τις προσδιοριζόμενες ενώσεις. Για τα παραπροϊόντα απολύμανσης του θαλάσσιου έρματος, είναι επιθυμητό να προσδιοριστεί η συγκέντρωσή τους κατά τη διάρκεια του αφερματισμού. Για να συμβεί αυτό θα πρέπει να ανασταλλεί η δράση του υπολειμματικού οξειδωτικού που υπάρχει στο θαλάσσιο έρμα. Το ολικό υπολειμματικό οξειδωτικό, χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της απολύμανσης αλλά παράλληλα συνεχίζει τη δράση του, καταστρέφοντας τους οργανισμούς και μικροοργανισμούς, με αποτέλεσμα να παράγονται επιπλέον παραπροϊόντα απολύμανσης. Για να είναι δυνατό να προσδιοριστεί η συγκέντρωση των παραπροϊόντων απολύμανσης κατά τον αφερματισμό και όχι η δυναμική σχηματισμού τους στο θαλάσσιο έρμα, προστίθενται στα δοχεία δειγματοληψίας ένας αναγωγικός παράγοντας. Ο παράγοντας αυτός πρέπει να έχει την ικανότητα να δεσμεύει το ολικό υπολειμματικό οξειδωτικό.

Η επιλογή του δοχείου δειγματοληψίας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο κατά την δειγματοληψία καθώς το υλικό του δοχείου μπορεί να οδηγήσει στην αλλοίωση των επιθυμητών ουσιών. Για τις οργανολογονωμένες ενώσεις συνιστάται η χρήση υάλινων δοχείων. Σε περίπτωση που δεν είναι εφικτό η χρήση υάλινου δοχείων μπορεί να χρησιμοποιηθούν πλαστικά δοχεία που είναι κατασκευασμένα από πολυτετραφθοροαιθυλένιο (polytetrafluoroethylene, PTFE). Επιπλέον για ενώσεις που είναι πιθανό να υδρολυθούν, όπως τα αλογονοοξικά οξέα, είναι προτιμότερο να χρησιμοποιηθούν γυάλινες σκουρόχρωμες φιάλες. Τέλος, η θερμοκρασία που αποθηκεύεται και μεταφέρεται το δείγμα, συνιστάται να είναι $<6^{\circ}\text{C}$, γεγονός που επιτυγχάνεται με τη χρήση ισόθερμων δοχείων με παγοκύστες ^[138].

Με βάση τα παραπάνω, για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας, συντάχθηκε δελτίο δειγματοληψίας θαλάσσιου έρματος που μπορεί να είναι εύχρηστο για την συμπλήρωση των πληροφοριών κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας του θαλάσσιου έρματος (Παράρτημα). Για την δειγματοληψία του θαλάσσιου έρματος, τα σημεία δειγματοληψίας που δίνονται από την οδηγία G2 (Guidelines for Ballast Water Sampling, MEPC.173(58)) αφορούν την συλλογή δειγμάτων από τη γραμμή αφερματισμού και σε περίπτωση που αυτό δεν είναι δυνατό, όπως λόγω της διαδικασίας αφερματισμού κάτω από την ίσαλο γραμμή, δίνεται η δυνατότητα δειγματοληψίας από την δεξαμενή. Η συντήρηση και αποθήκευση των δειγμάτων γίνεται λαμβάνοντας υπόψη τις βασικές οδηγίες που δίνονται στις Πρότυπες Μεθόδους για την ανάλυση του νερού και των λυμάτων, ενότητα 1060 (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd edition, Section 1060) και παράλληλα με τις οδηγίες συντήρησης δειγμάτων από τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν στο εργαστήριο ^[138]. Ο όγκος δείγματος πρέπει να είναι επαρκής για την ανάλυση των ζητούμενων παραμέτρων βάσει των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν.

Για την δειγματοληψία του θαλάσσιου έρματος χρησιμοποιήθηκαν

- Υάλινες φιάλες 50mL για τα τριαλογονομεθάνια
- Υάλινες σκουρόχρωμες φιάλες 50mL για τα αλογονοοξικά οξέα
- Υάλινη σκουρόχρωμη φιάλη 500mL για το διοξείδιο του χλωρίου
- Υάλινη σκουρόχρωμη φιάλη 500mL για τα χλωριώδη και τα χλωρικά ιόντα

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των παραπροϊόντων απολύμανσης του θαλάσσιου έρματος, κατά τη δειγματοληψία χρησιμοποιούνται ως αποχλωριωτικοί παράγοντες:

- Χλωριούχο αμμώνιο (NH_4Cl), 99,5-100,5 % (Fluka) για τα αλογονοοξικά οξέα

Πριν την αποστολή των δοχείων, προστίθενται στα δοχεία δειγματοληψίας $0.005\text{gNH}_4\text{Cl}$

- Θειοθειικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{O}_3\text{S}_2$) $\geq 98\%$ (Fluka) για τα τριαλογονομεθάνια, το διοξείδιο του χλωρίου, τα χλωριώδη και τα χλωρικά ιόντα

Σε μία φιάλη των 100mL μεταφέρονται 6.37g $\text{Na}_2\text{O}_3\text{S}_2$ και προστίθεται απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή και αναδεύεται μέχρι τη διάλυση της ουσίας και τη δημιουργία ομογενούς διαλύματος. Από το διάλυμα αυτό, μεταφέρονται 30ml και 300ml σε φιαλή δειγματοληψίας των 50mL και των 500mL αντίστοιχα.

4.2. Ανάλυση δειγμάτων πόσιμου νερού

Οι μεθοδολογίες που αναπτύχθηκαν εφαρμόστηκαν δοκιμαστικά σε δείγματα πόσιμου νερού. Συλλέχθηκαν δείγματα από την περιοχή της Λάρισας, των Τρικάλων, της Καρδίτσας, της Φαρκαδόνας, του Βόλου και της Λεπτοκαρυάς. Κατά την ανάλυση των δειγμάτων με τις αναπτυχθείσες μεθόδους δεν βρέθηκε στα δείγματα διοξείδιο του χλωρίου, χλωρικά και χλωριώδη ιόντα – τα οποία παράγονται όταν χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό το διοξείδιο του χλωρίου –. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων για τα αλογονομεθάνια και τα αλογονοξικά οξέα φαίνονται στον Πίνακα 28 και 29 αντίστοιχα. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις των ενώσεων βρίσκονται εντός των παραμετρικών τιμών που δίνονται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) για τα παραπροϊόντα απολύμανσης.

Πίνακας 28. Αποτελέσματα δειγμάτων χημικού έλεγχου κοινών παραμέτρων

Ένωση	Δήμος					
	Λάρισα	Τρίκαλα	Καρδίτσα	Φαρκαδόνα	Βόλος	Λεπτοκαρυά
pH	7,4	7,6	7,8	7,5	7,4	7,4
Αγωγιμότητα ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	478	391	224	542	525	448
NO_2^- (mgNO_2^-/L)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
NO_3^- (mgNO_3^-/L)	17	14	2,2	32	9,3	27
NH_4^+ (mgNH_4^+/L)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
SO_4^{2-} ($\text{mgSO}_4^{2-}/\text{L}$)	18	15	4	29	12	3
Σκληρότητα (mg CaCO_3/L)	264	222	106	294	198	272
Ca^{2+} (mg Ca^{2+}/L)	77	59	39	93	56	68
Mg^{2+} (mg Mg^{2+}/L)	17,39	18,39	1,89	14,96	14,02	24,71
Cl^- (mg Cl^-/L)	17,37	13,11	11,69	21,97	84,37	13,82
LOQ (NO_2^-): 0,11 mgNO_2^-/L , LOQ (NH_4^+): 0,15 mgNH_4^+/L , LOQ (SO_4^{2-}): 3 $\text{mgSO}_4^{2-}/\text{L}$						

Πίνακας 29. Αποτελέσματα χρωματογραφικής ανάλυσης για τον προσδιορισμό αλογονομεθανίων στα δείγματα και παραμετρικές τιμές των ενώσεων

Περιοχή	Ενώση (ng/mL)									
	Chloroform	1,1,1-Trichloroethane	Carbon tetrachloride	Trichloroethene	Bromodichloromethane	Tetrachloroethene	Dibromodichloromethane	1,2-Dibromoethane	Bromoform	1,2-Dibromo-3-Chloropropane
Λάρισα	70,29	nd	nd	nd	7,29	10,5	nd	nd	17,95	nd
Τρίκαλα	36,13	nd	nd	nd	<LOQ	<LOQ	<LOQ	nd	<LOQ	nd
Καρδίτσα	82,10	nd	nd	nd	63,30	<LOQ	nd	nd	nd	nd
Φαρκαδόνα	71,05	nd	nd	nd	<LOQ	<LOQ	<LOQ	nd	<LOQ	nd
Βόλος	57,53	nd	nd	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	nd	22,47	<LOQ
Λεπτοκαρυά	10	nd	nd	nd	<LOQ	<LOQ	nd	nd	<LOQ	nd
LOQ Μεθόδου (ng/mL)	7,41	8,33	2,35	7,69	6,45	7,69	3,17	14,29	13,33	5,00
Παραμετρική τιμή (WHO) (ng/mL)	300	-	4	20	60	40	100	0.4	100	1

nd : not detected, LOQ: Limit of Quantification

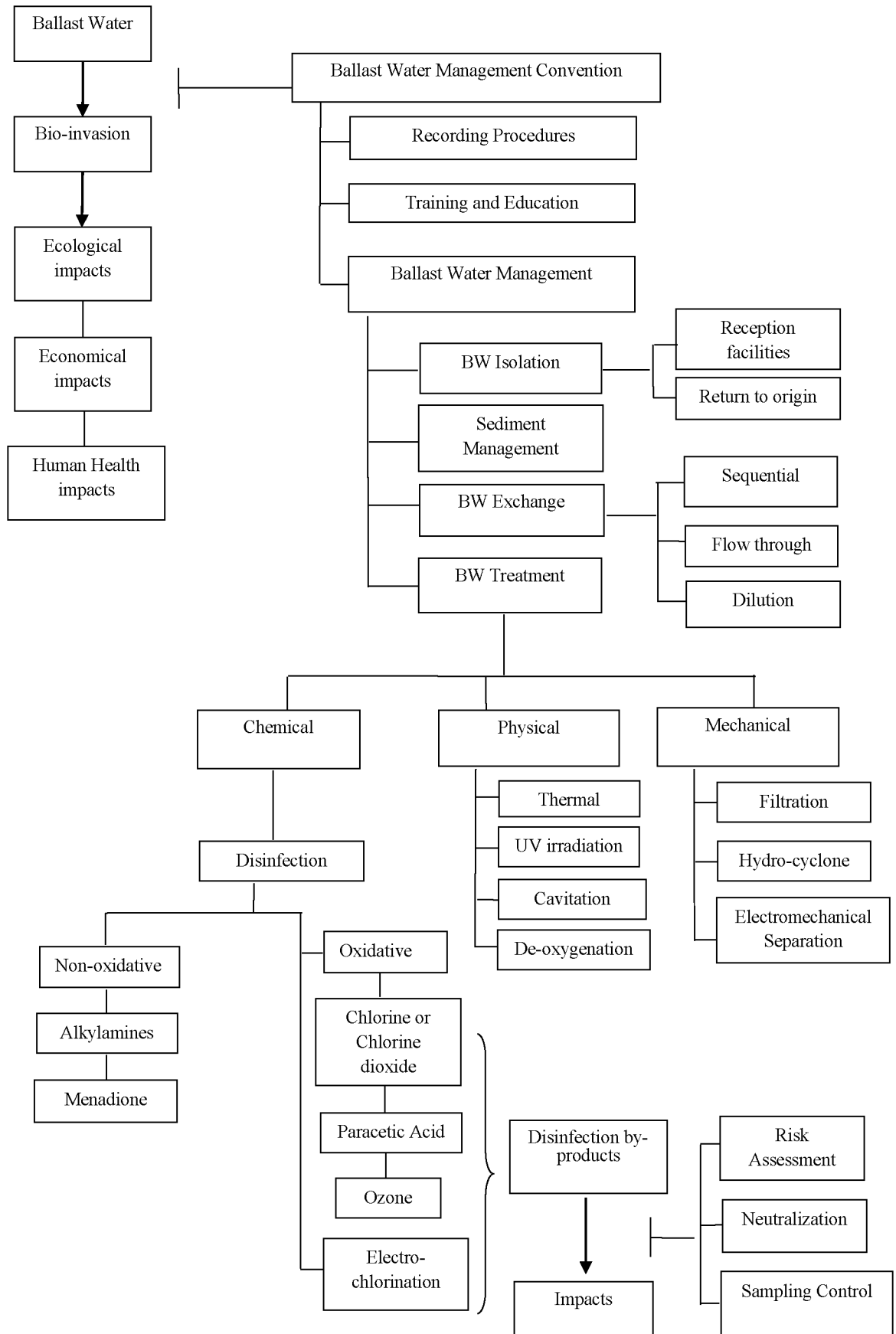
Πίνακας 30. Αποτελέσματα χρωματογραφικής ανάλυσης αλογονοξικών οξέων στα δείγματα και παραμετρικές τιμές των ενώσεων

Περιοχή	Ένωση (ng/mL)									
	MCAA	MBAA	DCAA	DALAPON	TCAA	BCAA	DBAA	BDCAA	CDBAA	TBAA
Λάρισα	nd	nd	4,85	22,83	<LOQ	<LOQ	4,67	5,31	19,78	<LOQ
Τρίκαλα	nd	nd	4,78	9,66	4,96	<LOQ	6,59	<LOQ	17,29	7,17
Καρδίτσα	nd	nd	26,85	10,67	26,76	<LOQ	2,60	<LOQ	7,32	<LOQ
Φαρκαδόνα	nd	nd	<LOQ	26,59	nd	nd	8,77	6,36	13,27	12,47
Βόλος	nd	nd	8,22	22,10	9,51	<LOQ	14,35	<LOQ	17,20	6,60
Λεπτοκαρυά	nd	nd	4,38	15,05	<LOQ	<LOQ	2,40	<LOQ	18,60	<LOQ
LOQ Μεθόδου (ng/mL)	16,67	5,00	2,78	1,85	3,85	4,55	1,85	5,00	1,32	5,56
Παραμετρική τιμή (WHO) (ng/mL)	20	20	50	-	200	-	50	200	-	200

nd: not detected, LOQ: Limit of Quantification, MCAA: Monochloroacetic acid, MBAA: Monobromoacetic acid, DCAA: Dichloroacetic acid, Dalapon: 2,2-Dichloropropionic acid, TCAA: Trichloroacetic acid, BCAA: Bromochloroacetic acid, DBAA: Dibromoacetic acid, BDCAA: Bromodichloroacetic acid, CDBAA: Chlorodibromoacetic acid, TBAA: Tribromoacetic acid

Συμπεράσματα ανάπτυξης και επικύρωσης μεθόδων για τον χημικό έλεγχο του θαλάσσιου έρματος

- ❖ Αναπτύχθηκαν μεθοδολογίες (φωτομετρικές, αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων GC-ECD) για τον ποσοτικό προσδιορισμό και έλεγχο τοξικών παραπροϊόντων απολύμανσης σε κατηγορίες υδάτων που υφίστανται απολύμανση με χλωριο ή υποχλωριώδες νάτριο (θαλάσσιο έρμα, νερό ανθρώπινης κατανάλωσης, νερό πισίνας, νερό αστικών λυμάτων).
- ❖ Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μέθοδος για τον φωτομετρικό προσδιορισμό διοξειδίου του χλωρίου (ClO_2). Η μέθοδος παρουσιάζει καλή γραμμικότητα ($R^2 \geq 0.99$), αποδεκτή ακρίβεια (95,2%), καλή επαναληψιμότητα ($\text{CV}\%=4,37\%$) και αναπαραγωγιμότητα ($\text{CV}\%=5,09\%$) μεταξύ των μετρήσεων.
- ❖ Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μέθοδος για τον ογκομετρικό προσδιορισμό των χλωριωδών (ClO_2^-) και χλωρικών (ClO_3^-) ιόντων. Η μέθοδος παρουσιάζει αποδεκτή ακρίβεια (97,9% και 117,49 για τα χλωριώδη και χλωρικά, αντίστοιχα), καλή επαναληψιμότητα ($\text{CV}\%=1,95\%$) και καλή αναπαραγωγιμότητα ($\text{CV}\%=2,48\%$) μεταξύ των μετρήσεων.
- ❖ Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μέθοδος για τον προσδιορισμό δέκα αλογονομεθανίων με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων GC-ECD. Η μέθοδος παρουσιάζει καλή γραμμικότητα σε εύρος συγκεντρώσεων 20-100ng/mL –με διακύμανση R^2 από 0,962 έως 0,991–. Η μεθοδολογία παρουσιάζει χαμηλά όρια ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ) των ουσιών που κυμαίνονται από 0,78 – 4,71ng/mL και 2,35 – 14,29ng/mL, αντίστοιχα. Ακόμα η μέθοδος παρουσιάζει αποδεκτή ακρίβεια με διακύμανση 90,29 έως 129,72%, καλή επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα μεταξύ των μετρήσεων, με συντελεστή μεταβλητότητας ($\text{CV}\%$) για το μεγαλύτερο ποσοστό των προσδιοριζόμενων ενώσεων να είναι εντός των ορίων $\pm 15\%$.
- ❖ Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μέθοδος για τον προσδιορισμό συνολικά δέκα αλογονοξικών οξέων με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων. Η μέθοδος παρουσιάζει καλή γραμμικότητα για εύρος συγκεντρώσεων 5-80 ng/mL, –με διακύμανση R^2 από 0,990 έως 0,995–. Η μέθοδος παρουσιάζει αποδεκτή ακρίβεια με διακύμανση 99,56 έως 104,19%, καλή επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα με τον συντελεστή μεταβλητότητας ($\text{CV}\%$) για το μεγαλύτερο ποσοστό των προσδιοριζόμενων ενώσεων να είναι εντός των ορίων $\leq \pm 15\%$. Η μέθοδος επιτρέπει χαμηλά όρια ανίχνευσης (LOD) και προσδιορισμού (LOQ) των ενώσεων, που κυμαίνονται από 0,43 – 5,50ng/mL και 1,32 – 16,67ng/mL, αντίστοιχα.
- ❖ Συντάχθηκε δελτίο δειγματοληψίας θαλάσσιου έρματος που περιλαμβάνει τη συλλογή πληροφοριών για την κατάσταση του αρχικού υποστρώματος και την επεξεργασία που δέχτηκε.
- ❖ Οι μέθοδοι που αναπτύχθηκαν εφαρμόστηκαν σε δείγματα πόσιμου νερού από την περιοχή της Θεσσαλίας και της Πιερίας. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση των δειγμάτων έδειξαν ότι οι αλογονωμένες οργανικές ενώσεις βρίσκονται εντός των ορίων των παραμετρικών τιμών του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO).



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Saglam, H. and E. Duzgunes, *Effect of Ballast Water on Marine Ecosystem*, in *Exergy for A Better Environment and Improved Sustainability 2: Applications*, F. Aloui and I. Dincer, Editors. 2018, Springer International Publishing: Cham. p. 373-382.
2. Tsolaki, E., E.J.J.o.C.T. Diamadopoulou, and Biotechnology, *Technologies for ballast water treatment: a review*. 2010. **85**(1): p. 19-32.
3. GloBallast. 13/03/2020]; Available from: <http://archive.iwlearn.net/globallast.imo.org/index.html>.
4. David, M., S. Gollasch, and C.J.S.N.d. Hewitt, *Global Maritime Transport and Ballast Water Management*. 2015. **10**: p. 978-94.
5. DRILLET, G., et al., *Aquaculture Biosecurity Challenges in the Light of the Ballast Water Management Convention*. 2018. **31**: p. 168-181.
6. Drake, L.A., M.A. Doblin, and F.C.J.M.p.b. Dobbs, *Potential microbial bioinvasions via ships' ballast water, sediment, and biofilm*. 2007. **55**(7-9): p. 333-341.
7. Werschkun, B., et al., *Emerging risks from ballast water treatment: The run-up to the International Ballast Water Management Convention*. 2014. **112**: p. 256-266.
8. IMO. *International Maritime Organization*. 08/03/2020]; Available from: <http://www.imo.org/EN/Pages/Default.aspx>.
9. Baumler, R. and L. Kuroshi, *GEF-UNDP-IMO GloBallast Partnerships Programme Training on RISK ASSESSMENT and PORT BIOLOGICAL BASELINE SURVEYS (PBBS)*. 2016.
10. WGVOSV. *Working Group on Ballast and Other Ship Vectors*. 23/04/2020]; Available from: <https://www.ices.dk/Pages/default.aspx>.
11. GISD. *"Global Invasive Species Database."*. 05/04/2020]; Available from: <http://www.iucngisd.org/gisd/>.
12. NAS-USGS. *Nonindigenous Aquatic Species for the United States Geological Survey*. 03/04/2020]; Available from: <https://nas.er.usgs.gov/default.aspx>.
13. UNCTAD. *Review of Maritime Transport*. 2020 01/02/2021]; Available from: <https://unctad.org/>.
14. USCG. *United States Coast Guard*. 28/03/2020]; Available from: <https://www.uscg.mil/>.
15. Electronic Code of Federal Regulations. 29/03/2020]; Available from: <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/ECFR?page=browse>.
16. EMSA. *European Maritime Safety Agency*. 29/03/2020]; Available from: <http://www.emsa.europa.eu/>.
17. European Union. *Communication from the Commission to the Council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions towards an EU Strategy on Invasive Species [SEC(2008) 2887 et SEC(2008) 2886]* 2008 22/03/2020]; Available from: <https://eur-lex.europa.eu/homepage.html>.
18. European Union. *REGULATION (EU) No 1143/2014 of the European Parliament and of the Council of 22 October 2014 on the prevention and management of the introduction and spread of invasive alien species*. 2014 29/03/2020]; Available from: <https://eur-lex.europa.eu/homepage.html>.
19. UNCTAD. "Review of Maritime Transport." 2019 30/03/2020]; Available from: <https://unctad.org/en/Pages/Home.aspx>.
20. ΦΕΚ 65/Α/8-5-2017. Νόμος Υπ' Αριθμ. 4470/2017: *Κύρωση της Διεθνούς Σύμβασης για τον Έλεγχο και Διαχείριση του Έρματος και των Ιζημάτων που προέρχονται από τα Πλοία, 2004 και άλλες διατάξεις*. 27/03/2020]; Available from: <https://www.e-nomothesia.gr/>.

21. Endresen, Ø., et al., *Challenges in global ballast water management*. 2004. **48**(7-8): p. 615-623.
22. Apetroaei, M.R., et al., *Overview on the practical methods of ballast water treatment*. Journal of Physics: Conference Series, 2018. **1122**: p. 012035.
23. GESAMP. *Methodology for the evaluation of ballast water management systems using active substances 2019* 08/03/2020]; Available from: <http://www.gesamp.org/>.
24. Panasia. *GloEn-Patrol Ballast Water Treatment System*. 15/04/2020]; Available from: <http://www.worldpanasia.com/eng/>.
25. Rudolf, P. *Simulation of multiphase flow in hydrocyclone*. in *EPJ Web of Conferences*. 2013. EDP Sciences.
26. Cullivan, J.C., et al., *New understanding of a hydrocyclone flow field and separation mechanism from computational fluid dynamics*. Minerals Engineering, 2004. **17**(5): p. 651-660.
27. Borchate, S., et al., *A review on applications of coagulation-flocculation and ballast flocculation for water and wastewater*. 2014. **4**(4): p. 216-222.
28. Gorin, K.V., et al., *Methods coagulation/flocculation and flocculation with ballast agent for effective harvesting of microalgae*. 2015. **193**: p. 178-184.
29. Gregg, M., G. Rigby, and G.M.J.A.I. Hallegraeff, *Review of two decades of progress in the development of management options for reducing or eradicating phytoplankton, zooplankton and bacteria in ship's ballast water*. 2009. **4**(3): p. 521-565.
30. TAMBURRI, M.N., et al., *Evaluations of a ballast water treatment to stop invasive species and tank corrosion. Discussion*. 2005. **113**: p. 558-568.
31. McCollin, T., et al., *Ship board testing of a deoxygenation ballast water treatment*. Marine Pollution Bulletin, 2007. **54**(8): p. 1170-1178.
32. de Lafontaine, Y. and S.-P. Despatie, *Performance of a biological deoxygenation process for ships' ballast water treatment under very cold water conditions*. Science of The Total Environment, 2014. **472**: p. 1036-1043.
33. Balaji, R., O. Yaakob, and K.K.J.E.R. Koh, *A review of developments in ballast water management*. 2014. **22**(3): p. 298-310.
34. Rigby, G., G. Hallegraeff, and A.J.J.o.M.E.E. Taylor, *Ballast water heating offers a superior treatment option*. 2004. **7**(3).
35. Boldor, D., et al., *Design and implementation of a continuous microwave heating system for ballast water treatment*. 2008. **42**(11): p. 4121-4127.
36. Bai, X., et al., *Killing of invasive species of ship's ballast water in 20t/h system using hydroxyl radicals*. 2005. **25**(1): p. 41-54.
37. Zhang, N., et al., *Evaluation of the ecotoxicity and biological efficacy of ship's ballast water treatment based on hydroxyl radicals technique*. 2012. **64**(12): p. 2742-2748.
38. Saharan, V.K., et al., *Advanced oxidation technologies for wastewater treatment: an overview*. 2014: Elsevier, Butterworth, Heinemann, UK.
39. Rawindran, H., S. Krishnan, and C. Sinnathambi, *A Review on overboard CEOR discharged produced water treatment and remediation*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2017. **206**: p. 012086.
40. Gogate, P.R. and A.M. Kabadi, *A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology*. Biochemical Engineering Journal, 2009. **44**(1): p. 60-72.
41. Mahvi, A., *Application of ultrasonic technology for water and wastewater treatment*. Iranian Journal of Public Health, 2009: p. 1-17.
42. Cvetković, M., B. Kompare, and A.K. Klemenčič, *Application of hydrodynamic cavitation in ballast water treatment*. Environmental Science and Pollution Research, 2015. **22**(10): p. 7422-7438.
43. Legg, M., et al., *Acoustic methods for biofouling control: A review*. Ocean Engineering, 2015. **103**: p. 237-247.

44. Chatel, G., L. Novikova, and S. Petit, *How efficiently combine sonochemistry and clay science?* Applied Clay Science, 2016. **119**: p. 193-201.
45. Estévez-Calvar, N., et al., *Potential use of an ultrasound antifouling technology as a ballast water treatment system.* Journal of Sea Research, 2018. **133**: p. 115-123.
46. Terán Hilaes, R., et al., *Hydrodynamic cavitation-assisted alkaline pretreatment as a new approach for sugarcane bagasse biorefineries.* Bioresource Technology, 2016. **214**: p. 609-614.
47. Čulin, J., B.J.O. Mustać, and c. management, *Environmental risks associated with ballast water management systems that create disinfection by-products (DBPs).* 2015. **105**: p. 100-105.
48. Romero-Martínez, L., et al., *Evaluation of ultraviolet disinfection of microalgae by growth modeling: application to ballast water treatment.* 2016. **28**(5): p. 2831-2842.
49. Batista, W.R., et al., *Which ballast water management system will you put aboard? Remnant anxieties: A mini-review.* 2017. **4**(3): p. 54.
50. Wärtsilä. *Aquarius UV Ballast Water Management System.* 28/04/2020]; Available from: <https://www.wartsila.com/>.
51. Chattopadhyay, S., et al., *Evaluation Of Biocides for Potential Treatment of Ballast Water.* 2004.
52. Navalon, S., M. Alvaro, and H. Garcia, *Carbohydrates as trihalomethanes precursors. Influence of pH and the presence of Cl⁻ and Br⁻ on trihalomethane formation potential.* Water Research, 2008. **42**(14): p. 3990-4000.
53. La Carbona, S., et al., *Efficacy and environmental acceptability of two ballast water treatment chemicals and an alkylamine based-biocide.* 2010. **409**(2): p. 247-255.
54. Zimmer-Faust, A.G., et al., *Evaluation of approaches to quantify total residual oxidants in ballast water management systems employing chlorine for disinfection.* 2014. **70**(10): p. 1585-1593.
55. Wikipedia. *Haloacetic Acids (HAAs).* 25/02/2020]; Available from: <https://www.wikipedia.org/>.
56. Lenntech. *Water Treatment Solutions.* 19/04/2020]; Available from: <https://www.lenntech.com/>.
57. PubChem. 22/04/2020]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
58. Council, A.C. Sodium Hypochlorite: A Public Health Champion 24/05/2020]; Available from: <https://www.americanchemistry.com/default.aspx>.
59. School, C. Bleaching powder (Ca(OCl)₂) manufacturing process, uses, reactions 10/10/2020]; Available from: <https://www.chemistryscl.com/>.
60. Lacasa, E., et al., *Electrochemical disinfection of simulated ballast water on conductive diamond electrodes.* 2013. **223**: p. 516-523.
61. Chhetri, R.K., A. Baun, and H.R. Andersen, *Algal toxicity of the alternative disinfectants performic acid (PFA), peracetic acid (PAA), chlorine dioxide (ClO₂) and their by-products hydrogen peroxide (H₂O₂) and chlorite (ClO₂⁻).* International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2017. **220**(3): p. 570-574.
62. Aieta, E.M. and J.D. Berg, *A Review of Chlorine Dioxide in Drinking Water Treatment.* 1986. **78**(6): p. 62-72.
63. Kitis, M., *Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review.* Environment International, 2004. **30**(1): p. 47-55.
64. Koivunen, J. and H. Heinonen-Tanski, *Peracetic acid (PAA) disinfection of primary, secondary and tertiary treated municipal wastewaters.* Water Research, 2005. **39**(18): p. 4445-4453.
65. Gregg, M., G. Rigby, and G.M. Hallegraeff, *Review of two decades of progress in the development of management options for reducing or eradicating phytoplankton,*

- zooplankton and bacteria in ship's ballast water*. *Aquatic Invasions*, 2009. **4**(3): p. 521-565.
66. Krasner, S.W., *The formation and control of emerging disinfection by-products of health concern*. 2009. **367**(1904): p. 4077-4095.
 67. Chhipi-Shrestha, G., M. Rodriguez, and R. Sadiq, *Unregulated disinfection By-products in drinking water in Quebec: A meta analysis*. *Journal of Environmental Management*, 2018. **223**: p. 984-1000.
 68. Mian, H.R., et al., *Prioritization of unregulated disinfection by-products in drinking water distribution systems for human health risk mitigation: A critical review*. *Water Research*, 2018. **147**: p. 112-131.
 69. Bond, T., et al., *A critical review of trihalomethane and haloacetic acid formation from natural organic matter surrogates*. 2012. **1**(1): p. 93-113.
 70. Shah, A.D., et al., *Formation of disinfection by-products during ballast water treatment with ozone, chlorine, and peracetic acid: influence of water quality parameters*. 2015. **1**(4): p. 465-480.
 71. Liu, Z.-Q., et al., *Formation of brominated trihalomethanes during chlorination or ozonation of natural organic matter extracts and model compounds in saline water*. 2018. **143**: p. 492-502.
 72. Xue, R., et al., *Evaluation of thirteen haloacetic acids and ten trihalomethanes formation by peracetic acid and chlorine drinking water disinfection*. *Chemosphere*, 2017. **189**: p. 349-356.
 73. Mostofa, K.M., et al., *Dissolved organic matter in natural waters*, in *Photobiogeochemistry of Organic Matter*. 2013, Springer. p. 1-137.
 74. Hernandez, M.R., et al., *Ships' Ballast Water Treatment by Chlorination Can Generate Toxic Trihalomethanes*. 2017. **99**(2): p. 194-199.
 75. NTP. *National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services. Monograph on Haloacetic acids found as water Disinfection by-products 2018 7/09/2020*; Available from: <https://ntp.niehs.nih.gov/>.
 76. Aguirre-González, M., et al., *Optimization of the HS-SPME technique by using response surface methodology for evaluating chlorine disinfection by-products by GC in drinking water*. 2011. **22**(12): p. 2330-2336.
 77. Nikolaou, A.D., et al., *Factors affecting the formation of organic by-products during water chlorination: a bench-scale study*. 2004. **159**(1): p. 357-371.
 78. Masoud, M.S., A.M. Ismail, and M.M.J.A.W.S. El-Hoshy, *Kinetics and thermodynamics of the formation of trihalomethanes*. 2019. **9**(4): p. 99.
 79. Jung, Y., et al., *Formation of bromate and chlorate during ozonation and electrolysis in seawater for ballast water treatment*. 2014. **36**(6): p. 515-525.
 80. Moreno-Andrés, J. and L.J.C. Peperzak, *Operational and environmental factors affecting disinfection byproducts formation in ballast water treatment systems*. 2019. **232**: p. 496-505.
 81. Zhang, X.-l., et al., *Formation of disinfection by-products: Effect of temperature and kinetic modeling*. *Chemosphere*, 2013. **90**(2): p. 634-639.
 82. Fooladvand, M., et al., *Investigation of trihalomethanes formation potential in Karoon River water, Iran*. 2011. **178**(1): p. 63-71.
 83. Banerji, S., et al., *Assessing the risk of ballast water treatment to human health*. 2012. **62**(3): p. 513-522.
 84. EPA. *Vessel Discharge Sample Collection & Analytical Monitoring, A How-to Reference for EPA's 2013 Vessel General Permit (VGP) 2014 27/06/2020*; Available from: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/vgp_self_sampling_reference.pdf.

85. Deborde, M. and U. von Gunten, *Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment—Kinetics and mechanisms: A critical review*. Water Research, 2008. **42**(1): p. 13-51.
86. WHO. *World Health Organization*. Guidelines for Drinking-water Quality, 4th edition 08/06/2020]; Available from: <https://www.who.int/>.
87. EPA. *National Primary Drinking Water Regulations*. 27/04/2020]; Available from: <https://www.epa.gov/>.
88. ECHA. *European Chemicals Agency*. Guidance on the Biocidal Products Regulation, Volume V, Guidance on Disinfection By-Products 2016 17/08/2020]; Available from: <https://echa.europa.eu/el/home>.
89. ECHA. *European Chemical Agency*. Guidance on the Biocidal Products Regulation, Volume V, Guidance on Disinfection By-Products 2017 19/08/2020]; Available from: <https://echa.europa.eu/el/home>.
90. Gopal, K., et al., *Chlorination byproducts, their toxicodynamics and removal from drinking water*. Journal of Hazardous Materials, 2007. **140**(1): p. 1-6.
91. Florentin, A., et al., *Health effects of disinfection by-products in chlorinated swimming pools*. 2011. **214**(6): p. 461-469.
92. Weisel, C.P., et al., *Exposure estimates to disinfection by-products of chlorinated drinking water*. 1999. **107**(2): p. 103-110.
93. NTP. *National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services*. 24/09/2020]; Available from: <https://ntp.niehs.nih.gov/>.
94. IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 101. Some Chemicals Present In Industrial And Consumer Products, Food And Drinking Water 2013* 07/10/2020]; Available from: <https://www.iarc.fr/>.
95. Delacroix, S., et al., *Disinfection by-products and ecotoxicity of ballast water after oxidative treatment—results and experiences from seven years of full-scale testing of ballast water management systems*. 2013. **73**(1): p. 24-36.
96. Zhang, N., et al., *Risk assessment of human health from exposure to the discharged ballast water after full-scale electrolysis treatment*. 2016. **77**: p. 192-199.
97. IPCS. *International Programme on Chemical Safety*. 01/10/2020]; Available from: <http://www.inchem.org/>.
98. IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 84, Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic 2004* 04/10/2020].
99. GESAMP. *Methodology for the evaluation of ballast water management systems using active substances*. 2019 08/03/2020]; Available from: <http://www.gesamp.org/>.
100. IRIS. *EPA's Integrated Risk Information System* 27/09/2020]; Available from: <https://www.epa.gov/>.
101. IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 52. Chlorinated Drinking Water, Chlorination by-products, some other Halogenated Compounds, Cobalt and Cobalt Compounds 1991* 04/09/2020]; Available from: <https://www.iarc.fr/>.
102. IARC. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 84, Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic 2004* 01/10/2020]; Available from: <https://www.iarc.fr/>.
103. IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 52. Chlorinated Drinking Water, Chlorination by-products, some other Halogenated Compounds, Cobalt and Cobalt Compounds 1991* 18/08/2020]; Available from: <https://www.iarc.fr/>.
104. WHO. *World Health Organization*. Chlorine Dioxide, Chlorite and Chlorate in Drinking-water 2016, 01/06/2020]; Available from: <https://www.who.int/>.

105. Bull, R.J.J.E.s. and technology, *Health effects of drinking water disinfectants and disinfectant by-products*. 1982. **16**(10): p. 554A-559A.
106. WHO. *World Health Organization*. Bromate in Drinking Water 2005 17/10/2020]; Available from: <https://www.who.int/>.
107. IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 20*,. Some Halogenated Hydrocarbons 1979 06/10/2020]; Available from: <https://www.iarc.fr/>.
108. IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 106*,. Trichloroethylene, Tetrachloroethylene and some other Chlorinated Agents 2012 [cited 01/10/2020; Available from: <https://www.iarc.fr/>.
109. IARC. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volyme 71*. Re-Evaluation of some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide 1999 25/10/2020]; Available from: <https://www.iarc.fr/>.
110. WHO. *World Health Organization* Brominated Acetic Acids in Drinking-water 2004 03/07/2020]; Available from: <https://www.who.int/>.
111. Chemistry LibreTexts. *Spectrophotometry*. 15/04/2020]; Available from: <https://chem.libretexts.org/>.
112. Chemistry LibreTexts. *Liquid-Liquid Extraction (LLE)*. 15/10/2020]; Available from: <https://chem.libretexts.org/>.
113. Wei, W., et al., *Selective recovery of Au (III), Pt (IV), and Pd (II) from aqueous solutions by liquid-liquid extraction using ionic liquid Aliquat-336*. 2016. **216**: p. 18-24.
114. He, Y., 3.41 - *Liquid-Based Microextraction Techniques for Environmental Analysis*, in *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, J. Pawliszyn, Editor. 2012, Academic Press: Oxford. p. 835-862.
115. Al-shatri, M.A., A.A. Nuhu, and C. Basheer, *Determination of Haloacetic Acids in Bottled and Tap Water Sources by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and GC-MS Analysis*. The Scientific World Journal, 2014. **2014**: p. 695049.
116. Chemistry LibreTexts. *Derivatization*. 15/11/2020]; Available from: <https://chem.libretexts.org/>.
117. Chemistry LibreTexts. *Gas Chromatography*. 03/03/2020]; Available from: <https://chem.libretexts.org/>.
118. Δεληγιαννάκης Ι.- Χέλα Δ.- Κωνσταντίνου Ι., “*Ενόργανη Περιβαλλοντική Ανάλυση*”. 2007, Εκδόσεις Τζιόλα: Ιωάννινα.
119. Chemistry LibreTexts. *Mass Spectrometer*. 18/02/2020]; Available from: <https://chem.libretexts.org/>.
120. Caro, J., M.J.E.s. Gallego, and technology, *Assessment of exposure of workers and swimmers to trihalomethanes in an indoor swimming pool*. 2007. **41**(13): p. 4793-4798.
121. Allard, S., et al., *Simultaneous analysis of 10 trihalomethanes at nanogram per liter levels in water using solid-phase microextraction and gas chromatography mass-spectrometry*. 2012. **1238**: p. 15-21.
122. GC-MS. *Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry*. Available from: <https://www.skz.de/en>.
123. ECD. *Electron Capture Detector*. 13/09/2020]; Available from: <https://aiabolita.com/addiction-treatment/44877-electron-capture-detector-eed.html>.
124. FDA. *U.S. Food and Drug Administration*. Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry 23/09/2020]; Available from: <https://www.fda.gov/>.
125. (EMA), E.M.A. *Guideline on Bioanalytical Method Validation*. 2011 25/12/2020]; Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/bioanalytical-method-validation>.
126. ICH. *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*. Quality Guidelines 26/09/2020]; Available from: <https://www.ich.org/>.

127. Θεοδωρίδης, Γ., Γηρούση, Σ., Ζαχαριάδης, Γ., Ζώτου, Α., Σαμανίδου, Β., *Βιοαναλυτική χημεία*. 2015: Αθήνα.
128. Παπαϊωάννου Α., Π.Π., *Εξειδικευμένα Θέματα Κλινικής Χημείας*. 2011: Broken Hill Publishers LTD.
129. Hach. *Chlorine Dioxide (DPD Method)*. Available from: <https://www.hach.com/standard-methods-for-the-examination-of-water-and-wastewater/product-downloads?id=7640232693>.
130. Hach. *Determination of Chlorine Dioxide, Chlorite and Chlorine* Available from: <https://www.hach.com/titration-application-pack-amperometric-free-total-chlorine-chlorine-dioxide-chlorite-sulfite-autocat/product-parameter-reagent?id=27112020307&callback=qs>.
131. Speck&Burke. *Perkin Elmer Clarus® 580 Gas Chromatograph*. Available from: <https://www.speckandburke.co.uk/>.
132. Chromatography, G. *Resolution*. 14/12/2020]; Available from: <https://www.slideshare.net/ummiabah/gas-chromatography-gc>.
133. Restek Pro EZGC. *Pro EZGC Chromatogram Modeler*. 11/12/2020]; Available from: <https://www.restek.com/proezgc>.
134. MolView. 20/11/2020]; Available from: <https://molview.org/>.
135. 552.2, E.M. *Determination of Haloacetic acids and Dalapon in Drinking water by Liquid-Liquid Extraction, Derivatization and Gas Chromatography with Electron Capture Detection*. 10/11/2020]; Available from: <https://www.epa.gov/>.
136. EPA. *Method 552.3, Determination of Haloacetic Acids and Dalapon in Drinking Water by Liquid-Liquid Microextraction, Derivatization, and Gas Chromatography with Electron Capture Detection 2003* 10/03/2020]; Available from: <https://www.epa.gov/>.
137. Chemical Book. 08/06/2020]; Available from: https://www.chemicalbook.com/ProductIndex_EN.aspx.
138. A.P.H.A. *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 23rd edition 2017* 24/02/2020]; Available from: <https://www.academia.edu/>.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Chemical name	PNEC general (µg/L)	PNEC near ship (µg/L)	DNEL worker (mg/kg bw/d)	DNEL general public (µg/kg bw/d)	DMEL (µg/kg bw/d)
Acetaldehyde	2.2E+0	2.2E+1	4.2E-1	2.1E+2	NA
Bromate ion	1.4E+2	1.4E+3	2.2E-2	1.1E+1	1.1E-1
Bromochloroacetic acid	1.6E+1	1.6E+1	7.5E-1	3.8E+2	1.3E-1
Bromochloroacetonitrile	6.9E-1	6.9E+0	1.5E-1	7.5E+1	NA
Chloral hydrate	9.7E+1	9.7E+2	6.7E-1	3.3E+2	NA
Chlorate ion	4.8E+3	4.8E+3	1.0E-1	5.0E+1	NA
Chloropicrin	2.5E-2	2.5E-2	4.1E-3	2.0E+0	NA
Dalapon	1.1E+1	1.1E+2	1.7E-1	8.4E+1	NA
Dibromoacetic acid	6.9E+3	6.9E+3	7.2E-2	3.6E+1	1.3E-1
Dibromoacetonitrile	5.5E-2	5.5E-1	1.6E-1	8.2E+1	NA
Dibromochloroacetic acid	3.0E+2	3.0E+2	3.0E-1	1.5E+2	NA
Dibromochloromethane	6.3E+0	2.7E+2	2.1E-1	1.1E+2	1.5E+0
1,2-dibromo-3-chloropropane	1.6E+2	1.5E+2	5.0E-3	2.5E+0	3.3E-2
1,1-dibromoethane	2.4E+1	2.4E+2	1.0E+0	5.0E+2	NA
Dibromomethane	4.5E+2	4.5E+2	1.1E+0	5.5E+2	NA
Dichloroacetic acid	2.3E+1	2.3E+2	1.2E-1	6.0E+1	1.7E+0
Dichloroacetonitrile	2.4E+1	2.4E+2	5.7E-2	2.9E+1	NA
Dichlorobromoacetic acid	6.0E+1	1.0E+2	5.0E+0	2.5E+3	1.7E+0
Dichlorobromomethane	7.8E+1	7.8E+1	4.0E-2	2.0E+1	2.4E+0
1,1-dichloroethane	1.1E+1	3.4E+1	6.2E+0	3.1E+3	NA
1,2-dichloroethane	2.2E+2	3.6E+2	5.0E-1	2.5E+2	1.0E+0
Dichloromethane	1.2E+2	2.7E+2	1.2E-1	6.0E+1	NA
1,2-dichloropropane	9.6E+1	1.5E+2	8.9E-1	4.4E+2	NA
Formaldehyde	5.8E+0	3.1E+1	2.0E-1	1.0E+2	2.2E-1
Isocyanuric acid	3.2E+2	6.2E+2	3.1E+0	1.5E+3	NA
Monobromoacetic acid	1.6E+1	1.6E+1	7.0E-2	3.5E+1	NA
Monobromoacetonitrile	2.3E+1	2.3E+2	8.0E-3	4.0E+0	NA
Monochloramine	9.8E-1	6.4E+0	1.9E-1	9.5E+1	NA
Monochloroacetic acid	5.8E-1	5.8E-1	7.0E-2	3.5E+1	NA
Monochloroacetonitrile	1.6E-1	1.6E+0	8.2E-3	4.1E+0	NA
Sodium hypochlorite	2.1E-1	2.1E-1	2.8E-1	1.4E+2	NA
Sodium sulfite	2.6E+2	2.6E+2	2.9E+0	1.4E+3	NA
Sodium thiosulphate	8.1E+2	8.1E+2	1.9E+1	9.6E+3	NA
Tetrachloromethane	9.8E+0	7.6E+1	4.4E-2	2.2E+1	NA
Tribromoacetic acid	1.4E+4	2.2E+4	8.6E-1	4.3E+2	NA
Tribromomethane	9.6E+1	9.6E+1	1.8E-1	8.9E+1	7.7E+0
2,4,6-tribromophenol	2.0E+0	2.6E+0	7.1E-1	3.6E+2	NA
Trichloroacetic acid	3.0E+2	3.0E+2	8.6E-1	4.3E+2	NA
Trichloroacetonitrile	6.0E+0	6.0E+1	3.3E-3	1.7E+0	NA
1,1,1-trichloroethane	1.3E+2	1.3E+2	6.0E+0	3.0E+3	NA
1,1,2-trichloroethane	1.3E+2	1.8E+3	2.4E+0	1.2E+3	NA
Trichloroethene	3.0E+0	2.2E+2	6.7E-4	3.3E-1	2.1E-1
Trichloromethane	1.5E+2	1.5E+2	2.4E-1	1.2E+2	NA
1,2,3-Trichloropropane	4.0E-1	2.7E+1	5.7E-2	2.9E+1	2.0E-4

NA = not applicable

Εικόνα 48. Ουσίες που σχετίζονται με την επεξεργασία του θαλάσσιου έρματος ^[23]

Πίνακας 31. Μέθοδοι Προσδιορισμού Διοξειδίου του Χλωρίου, Τριαλογονομεθανίων, Αλογονοξικών οξέων

Ενώσεις	Μέθοδοι Προσδιορισμού
Διοξείδιο του χλωρίου	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Method 8138 Direct Reading Method HR (5 to 1000 mg/L) ➤ Method 8065 Chlorophenol Red Method LR (0.01 to 1.00 mg/L) ➤ Hach Amaranth Method (20 to 500 µg/L) ➤ Method 8345 Direct Reading Method MR (1–50 mg/L) ➤ Method 10126 DPD Method Powder Pillows and AccuVac® Ampuls (0.04 to 5.00 mg/L) ➤ EPA 327.0- Determination Of Chlorine Dioxide And Chlorite Ion In Drinking Water Using Lissamine Green B And Horseradish Peroxidase With Detection By Visible Spectrophotometry ➤ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Section 4500-CIO2
Αλογονοξικά οξέα	<ul style="list-style-type: none"> ➤ EPA 552.2 Liquid-Liquid Extraction, Derivatization And Gas Chromatography With Electron Capture Detection ➤ EPA 552.1 Determination Of Haloacetic Acids And Dalapon In Drinking Water By Ion-Exchange Liquid-Solid Extraction And Gas Chromatography With An Electron Capture Detector ➤ EPA 552.3 Determination of Haloacetic Acids And Dalapon In Drinking Water By Liquid-Liquid Microextraction, Derivatization, And Gas Chromatography With Electron Capture Detection ➤ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Section 6251 B Micro Liquid-Liquid Extraction Gas Chromatographic Method
Τριαλογονομεθάνια	<ul style="list-style-type: none"> ➤ EPA Method 524.2 - Measurement of Purgeable Organic Compounds in Water By Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry ➤ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Section 6232 (B-C-D) ➤ B-Liquid-liquid extraction gas chromatographic method ➤ C-Purge and trap Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Method ➤ D-Purge- and- Trap Gas Chromatographic Method ➤ Hack Method 10224 Trihalomethane Formation Potential (THMFP) βασισμένη σε Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Section 5710 ➤ Hack Method 10132- Trihalomethanes as Chloroform



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



Δελτίο Δειγματοληψίας Θαλάσσιου Έρματος
στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας με θέμα:
«Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδων για τον χημικό έλεγχο του θαλάσσιου έρματος»

A. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Ημερομηνία δειγματοληψίας _____ Ωρα δειγματοληψίας: ____:____
Λιμάνι: _____

B. ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΠΛΟΙΟΥ

Όνομα πλοίου: _____	Αριθμός IMO: _____
Σημαία πλοιοκτήτριας εταιρείας _____	Έτος ναυπήγησης: _____
Ολική χωρητικότητα του πλοίου: _____ gross tonnage (gt)	
Όγκος έρματος που δέχεται το πλοίο (m ³): _____	Αριθμός δεξαμενών έρματος: _____
Ον/μο Πλοιάρχου: _____	e-mail : _____

Γ. ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΕΡΜΑΤΟΣ

Σύστημα επεξεργασίας θαλάσσιου έρματος: _____		Ημερομηνία εγκατάστασης: _____
Χρήση πρωτοβάθμιας επεξεργασίας: <input type="checkbox"/> ΝΑΙ <input type="checkbox"/> ΟΧΙ		
Τύπος πρωτοβάθμιας επεξεργασίας		
<input type="checkbox"/> Διήθηση <input type="checkbox"/> Υδροκυκλώνας <input type="checkbox"/> Ηλεκτρομηχανικός διαχωρισμός <input type="checkbox"/> Άλλο, προσδιορίστε _____		
Τύπος δευτεροβάθμιας επεξεργασίας		
<input type="checkbox"/> Φυσική επεξεργασία <input type="checkbox"/> Χημική επεξεργασία <input type="checkbox"/> Συνδυασμός		
Φυσική επεξεργασία	Χημική επεξεργασία/Είδος απολυμαντικού	
<input type="checkbox"/> Θέρμανση	<input type="checkbox"/> Ηλεκτροχλωρίωση	
<input type="checkbox"/> UV ακτινοβολία	<input type="checkbox"/> Χλώριο (Cl ₂)	
<input type="checkbox"/> Αποξυγόνωση	<input type="checkbox"/> Διοξείδιο του χλωρίου (ClO ₂)	
<input type="checkbox"/> Άλλο, προσδιορίστε _____	<input type="checkbox"/> Υποχλωριώδες Νάτριο (NaClO)	
	<input type="checkbox"/> Άλλο, προσδιορίστε _____	
Απολυμαντικό	Ποσότητα απολυμαντικού (mg/L): _____	
<input type="checkbox"/> Αποθηκεύεται στο πλοίο	Έλεγχος υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας με εγκατεστημένο σύστημα (TRO)	
<input type="checkbox"/> Παράγεται επί τόπου		
Χρήση αποχλωριωτικού παράγοντα:	<input type="checkbox"/> ΝΑΙ	
<input type="checkbox"/> ΝΑΙ	<input type="checkbox"/> ΟΧΙ	
<input type="checkbox"/> ΟΧΙ		

Δ. ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΕΡΜΑΤΟΣ

Περιοχή ερματισμού: _____	Ημερομηνία ερματισμού: _____
Ημερομηνία απολύμανσης: _____	Διάρκεια απολύμανσης (days): _____
<p style="text-align: center;">Ανταλλαγή έρματος κατά τη διάρκεια ταξιδιού</p> <input type="checkbox"/> ΟΧΙ <input type="checkbox"/> ΝΑΙ, σημειώστε περιοχή _____	
Ημερομηνία καθαρισμού δεξαμενών: _____	Θερμοκρασία έρματος κατά τον ερματισμό(°C): _____

Ε. ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Όγκος δεξαμενής δειγματοληψίας (m ³): _____	Βάθος δεξαμενής δειγματοληψίας (m): _____
Ροή γραμμής αφερματισμού (L/min): _____	Ποσότητα δείγματος: _____

Αριθμός δείγματος δειγματολήπτη	Περιγραφή σημείου δειγματοληψίας	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΠΙΤΟΠΙΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ			Αριθμός δείγματος εργαστηρίου (*)
		Θερμοκρασία (°C)	pH	Υπολειμματική οξειδωτική ουσία (mg/L)	

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

Το δείγμα μεταφέρθηκε με: Ισόθερμο δοχείο υπό ψύξη Άλλο, προσδιορίστε _____

Τρόπος αποστολής:

Ημερομηνία αποστολής:

Ώρα αποστολής:

Αρμόδιος δειγματοληψίας:

Ιδιότητα:

Υπογραφή:

Αρμόδιος παραλαβής δείγματος(*):

Υπογραφή:

Ημερομηνία παραλαβής:

Ώρα παραλαβής:

(*) Συμπληρώνονται από το Εργαστήριο μετά την παραλαβή των δειγμάτων